

Aus der Klinik für Gynäkologie, Gynäkologische Endokrinologie und Onkologie  
– Direktor: Prof. Dr. med. U. Wagner –  
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

# INTRAOPERATIVE ABKLATSCHZYTLOGIE AN WÄCHTERLYMPHKNOTEN BEIM MAMMAKARZINOM

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin  
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg vorgelegt

von

SABINE HOFMANN  
geb. Klemt, aus Gelsenkirchen

Marburg, 2007

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin  
der Philipps-Universität Marburg am 28. November 2007.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. med. M. Rothmund  
Referent: Prof. Dr. med. U. Wagner  
Korreferent: Prof. Dr. med. R. Moll

*Für Pascal,  
mein Glück und mein Zuhause.*



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Grundlagen</b>	<b>5</b>
2.1	Anatomische Grundlagen . . . . .	5
2.1.1	Anatomie und Lymphabfluss der weiblichen Brust . . . . .	5
2.1.2	Anatomie, Histologie und Zytologie des Lymphknotens . . . . .	6
2.2	Epidemiologie und Prognosefaktoren des Mammakarzinoms . . . . .	7
2.3	Stadien des Mammakarzinoms . . . . .	8
2.4	Standardtherapie des Mammakarzinoms . . . . .	9
2.5	Der axilläre Lymphknotenstatus . . . . .	9
2.5.1	Die Standard-Axilladisektion . . . . .	10
2.5.2	Der Wächterlymphknoten . . . . .	11
2.5.3	Die Sampling-Methode . . . . .	13
2.5.4	Bedeutung von Mikrometastasen im Lymphknoten . . . . .	13
2.6	Intraoperative Untersuchungsmethoden axillärer Lymphknoten . . . . .	14
2.6.1	Notwendigkeit intraoperativer Untersuchungsmethoden . . . . .	14
2.6.2	Schnellschnitt . . . . .	14
2.6.3	Herstellung zytologischer Lymphknotenpräparate . . . . .	16
2.6.4	Eigenschaften der Abklatschzytologie von Lymphknoten . . . . .	17
2.6.5	Literaturübersicht . . . . .	20
<b>3</b>	<b>Fragestellungen</b>	<b>31</b>
<b>4</b>	<b>Patientinnen, Material und Methoden</b>	<b>33</b>
4.1	Patientenkollektiv . . . . .	33
4.1.1	Einschlusskriterien der KISS-Studie . . . . .	33
4.1.2	Alter und TNM-Stadien der Patientinnen . . . . .	34
4.1.3	Histologische Merkmale der Karzinome . . . . .	34

4.1.4	BET und weitere Therapiemaßnahmen . . . . .	35
4.2	Detektion und Entnahme der SLN . . . . .	35
4.2.1	Präoperative Detektion der SLN . . . . .	35
4.2.2	Intraoperative Detektion und Entnahme der SLN . . . . .	35
4.3	Intraoperative Aufarbeitung der SLN . . . . .	36
4.3.1	Herstellung der zytologischen Präparate . . . . .	36
4.3.2	Herstellung der Schnellschnitt-Präparate . . . . .	38
4.4	Zytologische Beurteilung . . . . .	39
4.4.1	Studienaufbau . . . . .	39
4.4.2	Untersucher . . . . .	40
4.4.3	Allgemeine und spezielle Malignitätskriterien . . . . .	40
4.4.4	Fehlerquellen . . . . .	44
4.5	Ergebnisberechnung . . . . .	45
4.5.1	Umcodierung . . . . .	45
4.5.2	Ergebniskategorien . . . . .	46
4.5.3	Statistische Kennwerte . . . . .	48
4.5.4	Knoten- und patientenbasierte Ergebnisberechnung . . . . .	50
<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>51</b>
5.1	Histopathologie . . . . .	52
5.2	Schnellschnitt . . . . .	52
5.3	Zytologie . . . . .	53
5.4	Tabellarische Übersicht . . . . .	56
5.5	Zweifelhafte Befunde . . . . .	62
5.6	Nicht auswertbare Präparate . . . . .	63
5.7	Mikrometastasen . . . . .	64
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>71</b>
6.1	Vergleich mit internationalen Studien . . . . .	71
6.1.1	Fallzahlen . . . . .	71
6.1.2	Tumorstadien . . . . .	72
6.1.3	Ergebnisse . . . . .	72
6.1.4	Färbungen . . . . .	73
6.2	Vergleich mit studieninternem Schnellschnitt . . . . .	75

6.3	Zweifelhafte Befunde . . . . .	76
6.3.1	Bedeutung der zweifelhaften Befunde . . . . .	77
6.3.2	Einfluss der Umcodierung auf das Untersuchungsergebnis . .	78
6.4	Nicht auswertbare Präparate . . . . .	79
6.5	Problematik der Mikrometastasen . . . . .	80
6.6	Untersucherabhängigkeit der Methode . . . . .	83
6.7	Schwachpunkte, Fehleranalyse, Verbesserungsmöglichkeiten . . . . .	85
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>89</b>
<b>A</b>	<b>Stadieneinteilung des Mammakarzinoms</b>	<b>91</b>
A.1	TNM-Stadien . . . . .	91
<b>B</b>	<b>Übersicht internationaler Studien</b>	<b>95</b>
<b>C</b>	<b>Färbereien</b>	<b>103</b>
C.1	Papanicolaou-Färbung . . . . .	103
C.2	Diff Quick-Färbung . . . . .	104
C.3	Hämatoxylin-Eosin-Färbung . . . . .	105
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>107</b>





# Tabellenverzeichnis

<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>Grundlagen</b>	<b>5</b>
2.1 Prognosefaktoren des Mammakarzinoms . . . . .	7
2.2 Eigenschaften intraoperativer Untersuchungsmethoden . . . . .	18
<b>Fragestellung</b>	<b>31</b>
<b>Patientinnen, Material und Methoden</b>	<b>33</b>
4.1 Eigenes Patientenkollektiv . . . . .	34
4.2 Mikroskopische Malignitätskriterien . . . . .	42
4.3 Ergebniskategorien bei Vergleich von Zytologie und Histologie . . .	47
4.4 Formeln zur Berechnung der statistischen Kennwerte . . . . .	50
<b>Ergebnisse</b>	<b>51</b>
5.1 Legende zu den Ergebnistabellen . . . . .	57
5.2 Ergebnisse auf Knotenbasis ohne Mikrometastasen und mit Umco- dierung „zweifelhaft“ → „maligne“ . . . . .	58
5.3 Statistische Kennwerte auf Knotenbasis ohne Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ . . . . .	58
5.4 Ergebnisse auf Knotenbasis ohne Mikrometastasen und mit Umco- dierung „zweifelhaft“ → „benigne“ . . . . .	59
5.5 Statistische Kennwerte auf Knotenbasis ohne Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ . . . . .	59

5.6	Ergebnisse auf Patientenbasis ohne Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ . . . . .	60
5.7	Statistische Kennwerte auf Patientenbasis ohne Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ . . . . .	60
5.8	Ergebnisse auf Patientenbasis ohne Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ . . . . .	61
5.9	Statistische Kennwerte auf Patientenbasis ohne Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ . . . . .	61
5.10	Anzahl zweifelhafter Befunde . . . . .	62
5.11	Anteil zweifelhafter an allen Befunden . . . . .	62
5.12	Anteil maligner und benigner an den zweifelhaften Befunden . . . . .	63
5.13	Befundung der SLN mit Mikrometastasenbefall . . . . .	65
5.14	Ergebnisse auf Knotenbasis mit Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ . . . . .	66
5.15	Statistische Kennwerte auf Knotenbasis mit Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ . . . . .	66
5.16	Ergebnisse auf Knotenbasis mit Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ . . . . .	67
5.17	Statistische Kennwerte auf Knotenbasis mit Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ . . . . .	67
5.18	Ergebnisse auf Patientenbasis mit Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ . . . . .	68
5.19	Statistische Kennwerte auf Patientenbasis mit Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ . . . . .	68
5.20	Ergebnisse auf Patientenbasis mit Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ . . . . .	69
5.21	Statistische Kennwerte auf Patientenbasis mit Mikrometastasen und mit Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ . . . . .	69
<b>Diskussion</b>		<b>71</b>
6.1	Ergebnisbeeinflussung durch Umcodierung . . . . .	79
6.2	Beeinflussung der Sensitivität durch Umcodierung und Berücksichtigung der Mikrometastasen . . . . .	82

6.3	Möglichkeiten für benigne Befunde . . . . .	87
6.4	Möglichkeiten für maligne Befunde . . . . .	87
<b>Zusammenfassung</b>		<b>89</b>
<b>Anhang</b>		<b>90</b>
A.2	TNM-Stadiengruppierungen . . . . .	93
B.1	Legende zu Übersichts- und Ergebnistabellen . . . . .	96
B.2	Aufbau internationaler Studien zur SLN-Zytologie . . . . .	97
B.3	Ergebnisse internationaler Studien zur SLN-Zytologie . . . . .	99



# Abbildungsverzeichnis

<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>Grundlagen</b>	<b>5</b>
2.1 Normalzellen im Lymphknoten . . . . .	6
<b>Fragestellung</b>	<b>31</b>
<b>Patientinnen, Material und Methoden</b>	<b>33</b>
4.1 Normale Lymphknotenzytologie, Vergleich der beiden Färbungen . .	37
4.2 Zerstörtes Zellbild des Lymphknotens durch Metastaseninvasion . .	41
4.3 Metastase, Vergleich der beiden Färbungen . . . . .	43
4.4 Morphologie einer Pseudometastase . . . . .	48
<b>Ergebnisse</b>	<b>51</b>
<b>Diskussion</b>	<b>71</b>
6.1 Metastase am Objektträgerrand . . . . .	86
<b>Zusammenfassung</b>	<b>89</b>
<b>Anhang</b>	<b>90</b>



## Verwendete Abkürzungen

BET	Brusterhaltende Therapie
DQ	Diff Quick (Färbung)
FN	falsch negativ
FP	falsch positiv
G	Giemsa (Färbung)
HE	Hämatoxilin-Eosin (Färbung)
IHC	Immunhistochemie
KISS	Klinische interdisziplinäre Sentinel-Studie
MG	May-Giemsa (Färbung)
MGG	May-Grünwald-Giemsa (Färbung)
MRM	Modifiziert radikale Mastektomie
MTA	Medizinisch-technische Assistentin
NA <sub>benigne</sub>	zytologisch nicht auswertbar, histologisch benigne
NA <sub>maligne</sub>	zytologisch nicht auswertbar, histologisch maligne
NPW	negativer prädiktiver Wert
PAP	Papanicolaou (Färbung)
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (engl. <i>polymerase chain reaction</i> )
PPW	positiver prädiktiver Wert
RN	richtig negativ
RP	richtig positiv
SAD	Standard-Axilladisektion
SLN	Sentinel-Lymphknoten (engl. <i>sentinel-lymphnode</i> )
SLNB	Sentinel-Lymphknotenbiopsie (engl. <i>sentinel-lymphnode biopsy</i> )
SS	Schnellschnitt
TB	Toluidinblau (Färbung)
Tc	Technetium
U <sub>x</sub>	Untersucher <i>x</i>





# Kapitel 1

## Einleitung

Das Mammakarzinom ist heute die häufigste maligne Tumorerkrankung der Frau. Früherkennung, Diagnose und Therapie erfordern die Zusammenarbeit von Gynäkologen, Radiologen, Nuklearmedizinern, Pathologen und Strahlentherapeuten. Die adäquate, stadienadaptierte Behandlung des Mammakarzinoms stellt somit eine interdisziplinäre Herausforderung dar.

Heute ist die Brusterhaltende Therapie (BET) in Kombination mit der Bestrahlung der Restdrüse und der Entnahme axillärer Lymphknoten die Standardtherapie bei kleinen Primärtumoren und Fehlen von klinisch-radiologischem Hinweis auf eine Fernmetastasierung.

Aufgrund der primär lymphogenen Metastasierung des Mammakarzinoms ist der axilläre Lymphknotenstatus ein wichtiger Prädiktor der Prognose. Das Vorhandensein axillärer Metastasen entscheidet auch über das weitere therapeutische Vorgehen nach der Operation. Weder Tastuntersuchung noch bildgebende Verfahren können bisher mit ausreichender Sicherheit den axillären Lymphknotenstatus klären, so dass ein invasiver Eingriff zur Gewinnung von Lymphknoten und ihre anschließende histologische Untersuchung nach wie vor unverzichtbar ist.

Bisher wurde bei jeder Patientin die Standard-Axilladisektion (SAD), also eine Ausräumung der axillären Lymphknotenstationen durchgeführt. Da durch die verbesserte Früherkennung aber zunehmend frühere Tumorstadien entdeckt werden, in denen häufig noch keine fassbare, lymphogene Metastasierung stattgefunden hat, stellt in diesen Fällen die SAD möglicherweise eine Übertherapie dar. Sie ist nicht selten mit belastenden postoperativen Komplikationen, wie z.B. dem Lymphödem des Armes, verbunden.

Das moderne Verfahren der Sentinel-Lymphknotenbiopsie (SLNB) gewinnt somit heute zunehmend auch in der Therapie des Mammakarzinoms an Bedeutung.

Als Wächter- oder Sentinel-Lymphknoten (*sentinel lymphnode* , SLN) wird im Allgemeinen der erste bzw. die ersten Lymphknoten im Abflussgebiet eines Primärtumors bezeichnet. Mit Hilfe der SLNB lassen sich diese identifizieren, minimalinvasiv entfernen und histologisch untersuchen. Bei tumorfreien SLN ist auch in den übrigen Lymphknoten Metastasenfreiheit mit einer hohen Wahrscheinlichkeit zu erwarten (N0-Situation nach der TNM-Klassifikation), sodass eventuell auf die beim Mammakarzinom bisher notwendige SAD bei gleicher diagnostischer Aussagekraft verzichtet werden kann [86]. Laut Veronesi kommen sogenannte „Skipmetastasen“, d.h. Metastasen in einem Nicht-SLN bei tumorzellfreien SLN in 6,7 %, der Befall mehrerer Nicht-SLN bei histologisch negativen SLN in ca. 5,9 % vor [85].

In den aktuellen Leitlinien der Gesellschaft für Senologie wird empfohlen, das Verfahren unter bestimmten Voraussetzungen und in Abhängigkeit einer strengen Indikationsstellung in der klinischen Routine anzubieten [44].

Im Falle einer N0-Situation, also tumorzellfreien SLN, würde dann ausschließlich die SLNB durchgeführt und auf die SAD verzichtet. Im anderen Fall gibt es zwei Möglichkeiten: wird intraoperativ eine axilläre Metastasierung nachgewiesen, wird die SAD noch während desselben Eingriffs durchgeführt. Stellt sich die Metastasierung jedoch erst in der endgültigen histologischen Aufarbeitung der SLN heraus, muss eine sekundäre SAD angeschlossen werden. Ein solcher Zweiteingriff bedeutet allerdings eine nicht unerhebliche Belastung für die Patientin, sowie einen Mehraufwand an Kosten, Zeit und OP-Kapazität.

Essentiell für eine möglichst effiziente und die Patientin wenig belastende Vorgehensweise ist somit eine geeignete intraoperative Untersuchungsmethode, mit der man schnell und zuverlässig einen Tumorbefall der entnommenen SLN nachweisen oder ausschließen kann.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Zuverlässigkeit der Abklatschzytologie von SLN im Vergleich zum Schnellschnitt, der bis heute die klassische Methode zur intraoperativen Befunderhebung bei Malignitätsverdacht darstellt.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden 66 Patientinnen mit einem primären Mammakarzinom in der Zeit von November 2000 bis November 2001 an der Marburger Universitäts-Frauenklinik operiert. Mit Hilfe der SLNB wurden ihnen 145 Lymphknoten entnommen, von diesen zytologische Abklatschpräparate angefertigt, untersucht und die Ergebnisse statistisch ausgewertet. Für 134 SLN von 64 Pati-

---

entinnen lagen alle relevanten Daten vor, die übrigen wurden aus den Berechnungen herausgenommen. Goldstandard waren die Histologie und Immunhistochemie (IHC) von Serienschnitten.

Da es sich bei der Zytologie im Allgemeinen um eine stark untersucherabhängige Methode handelt, wird im Rahmen dieser Arbeit besonderer Wert auf den Vergleich der Ergebnisse von vier verschiedenen Untersuchern mit unterschiedlichem Ausbildungs- und Erfahrungsstand gelegt. Zudem wurden im Hinblick auf die Frage, ob die Auswahl der Färbemethode entscheidenden Einfluss auf die Ergebnisse hat, zwei verschiedene Färbungen verwendet. Bei der einen handelt es sich um die in der Gynäkologie häufig eingesetzte Papanicolaou-Färbung (PAP), bei der anderen um die Diff Quick-Färbung (DQ), eine Schnellfärbung, welche klassischerweise in der Blutausstrichdiagnostik eingesetzt wird.

Desweiteren soll dargestellt werden, welche Fehlerquellen die Abklatschzytologie birgt. Es werden Möglichkeiten genannt, um diese Fehler zu umgehen und somit eine qualitativ hochwertige Lymphknotenzytologie zu gewährleisten.



## Kapitel 2

### Grundlagen

#### 2.1 Anatomische Grundlagen

##### 2.1.1 Anatomie und Lymphabfluss der weiblichen Brust

Die Brust der Frau setzt sich aus Binde- und Fettgewebe sowie der Brustdrüse zusammen. Die Brustdrüse selbst besteht aus 15–20 einzelnen Läppchen. Aus ihnen gehen die Milchgänge hervor, die in der Mitte zur Brustwarze führen und sich dort zu den Milchsäckchen erweitern.

Die weibliche Brust wird zur Einordnung von pathologischen Befunden in vier Quadranten unterteilt, wobei der äußere obere mit einem Processus axillaris nach lateral reicht. Sie liegt dem M. pectoralis major verschieblich auf und wird durch Haltebänder, die Cooper-Ligamente, an der Pectoralisfaszie befestigt.

Im Bindegewebe zwischen den einzelnen Drüsenläppchen beginnt ein weitverzweigtes Lymphgefäßsystem, welches sich in ein oberflächliches und ein tiefes Netzwerk gliedert. Beide sind miteinander verbunden und leiten die Lymphe zu übergeordneten Lymphknotenstationen ab, u.a. den Mammaria interna- und axillären Lymphknoten.

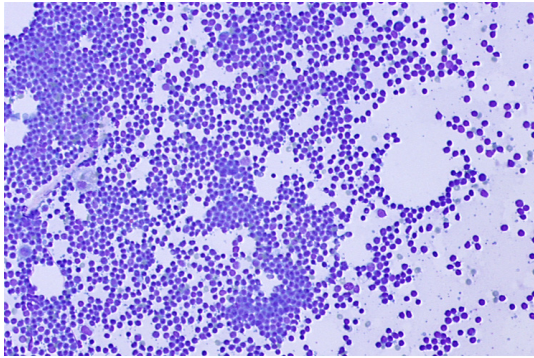
Chirurgisch gliedert man die Lymphknoten-Gruppen der Axilla in Level I–III. Die Einteilung orientiert sich an der Lage in Bezug auf die V. axillaris und den M. pectoralis minor:

I: unterhalb der V. axillaris, lateral des M. pectoralis minor

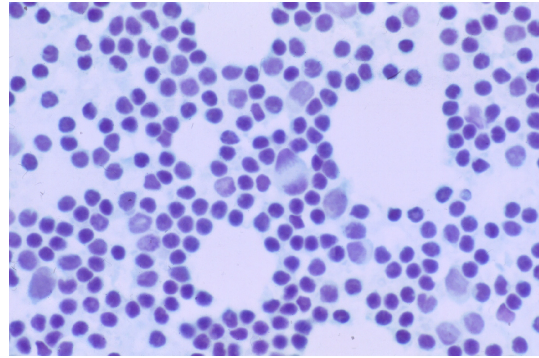
II: unterhalb der V. axillaris, dorsal des M. pectoralis minor

III: oberhalb der V. axillaris, medial des M. pectoralis minor

Der axilläre Lymphknotenstatus besitzt als diagnostisches Kriterium hinsichtlich Prognose und Therapie eine besondere Bedeutung, da das Mammarkarzinom zu den primär lymphogen metastasierenden Tumoren gehört.



(i) Übersichtsbild



(ii) Detailansicht

**Abbildung 2.1:** Erscheinungsbild von Normalzellen im Lymphknoten (DQ-Färbung), man beachte die Morphologie von Lymphozyten, Makrophagen und Granulozyten, sowie die deutlich sichtbare Mitose eines Lymphozyten.

### 2.1.2 Anatomie, Histologie und Zytologie des Lymphknotens

Lymphknoten sind sekundäre Immunorgane. Sie liegen organnah oder sind an Zusammenflüssen der Lymphgefäße in den Lymphabfluss eingeschaltet. Ihre Funktion ist die Reinigung der Lymphflüssigkeit von Fremdstoffen und Krankheitserregern, die Speicherung von Zellen des Immunsystems und deren Ausbildung zu reifen Abwehrzellen.

Makroskopisch sind sie bohnenförmig, wobei an der konvexen Seite afferente Lymphgefäße eintreten. Der Hilus ist an der konkaven Seite lokalisiert. Hier treten Blutgefäße ein und aus, und das efferente Lymphgefäß verlässt den Knoten. Umgeben werden Lymphknoten von einer Bindegewebskapsel, von der aus Trabekel ins Organ hineinziehen.

Morphologisch und funktionell wird das Lymphknoten-Parenchym in Rinde und Mark gegliedert. Die Rinde setzt sich aus einem äußeren und einem inneren Bereich zusammen. Der äußere (B-Zell-)Bereich enthält primäre und sekundäre Lymphfollikel, der innere (T-Zell-)Bereich, genannt Parakortex, stellt den Übergang ins Mark dar. Hier findet man postkapilläre Venolen, welche für die Rezirkulation der Lymphozyten wichtig sind. Das Mark ist durchsetzt von Bindegewebssträngen, zwischen deren dreidimensionalem Netzwerk Lymphräume liegen, die als Marksinus bezeichnet werden.

**Tabelle 2.1:** Prognosefaktoren des Mammakarzinoms nach [33].

Gesicherte Faktoren	TNM-Stadium
	Malignitätsgrad
	Hormonrezeptorstatus: Östrogen-, Progesteronrezeptoren
Wahrscheinliche Faktoren	Tumorzellnachweis im Knochenmark
	Angioinvasion
	Tumervaskularisation
	Tumorphilierung: S-Phasenindex, Ki67
	Onkogenprodukte: Her-2-Rezeptor
Mögliche Faktoren	Tumor-Suppressor-Proteine: p53, p16
	Adhäsionsmoleküle: CD44v6, E-Cadherin
	Tumorproteasen und Proteaseninhibitoren: uPA, PAI-1
	Onkogenprodukte: bcl-2, c-myc, $\beta$ -Catenin

Normale Zellen des Lymphknotens sind B-Lymphozyten in verschiedenen Stadien auf ihrem Weg zu reifen Plasma- oder Gedächtniszellen, CD4- oder CD8-positive T-Lymphozyten, Granulozyten, Makrophagen (Sternhimmelzellen) und andere Zellen des Monozyten-Makrophagen-Systems.

## 2.2 Epidemiologie und Prognosefaktoren des Mammakarzinoms

Durchschnittlich erkrankt etwa jede 11. Frau in ihrem Leben an Brustkrebs [29]. Die Inzidenz in Deutschland beträgt nach Schätzungen des Robert Koch-Instituts 47 500 pro Jahr mit steigender Tendenz, wobei laut Engel ungefähr 20 % der neuerkrankten Frauen jünger als 50 Jahre sind [19]. Das Mammakarzinom ist der zweithäufigste Anlass für eine stationäre Behandlung bei weiblichen Patienten. Es ist für rund 18 % aller Krebstodesfälle bei Frauen verantwortlich und steht damit in der Todesursachenstatistik bezüglich Krebserkrankungen der Frau an erster Stelle [29].

Das Haupterkrankungsalter liegt zwischen 35 und 55 Jahren. Zwischen 17 000 und 18 000 Frauen sterben jährlich an Brustkrebs. Damit gehört diese Erkrankung – in Bezug auf alle Todesfälle – zu den fünf häufigsten Ursachen bei der Frau [19]. Die 5-Jahres-Überlebensrate beträgt 76 % [48].

Die Prognose ist abhängig von mehreren, anerkannten Faktoren: Alter, TNM-Stadium, histologischem Tumortyp, Differenzierungsgrad und Hormonrezeptorstatus [1, 43, 59]. Zusätzlich könnten noch weitere Parameter eine Rolle spielen, wie histologischer Gefäßeinbruch oder Nachweis von Tumorzellen im Knochenmark. Sie werden bisher in der Praxis noch nicht berücksichtigt (vgl. Tabelle 2.1).

Der entscheidende Prognosefaktor ist auch heute noch der Lymphknotenstatus. Als wichtigster Einzelfaktor entscheidet das Vorhandensein axillärer Metastasen über das weitere therapeutische Vorgehen, also die Durchführung einer adjuvanten systemischen Therapie [16, 20, 22, 26, 53, 74, 82]. Hierbei spielt besonders auch die Anzahl befallener Lymphknoten und ihre Lokalisation eine Rolle [19].

### 2.3 Stadien des Mammakarzinoms

Entscheidend für eine adäquate Therapie und die Vergleichbarkeit von Studienergebnissen auf dem Gebiet der Onkologie ist das Vorhandensein einer allgemein gültigen und umfassenden internationalen Klassifikation zur Stadieneinteilung anhand von klinischen und histopathologischen Befunden.

Auch beim Brustkrebs steht hierfür die TNM-Klassifikation zur Verfügung [88]. Berücksichtigt werden der Lokalbefund hinsichtlich Ausdehnung (T = Tumorstadium) und Malignitätsgrad (G = *grading*) und die systemische Ausbreitung in Form von Lymphknoten- (N = Lymphknotenbefall) oder Organmetastasen (M = Metastasierung, z.B. ossär oder pulmonal).

Ein „c“ als Vorsilbe beschreibt klinische, ein „p“ histologische Untersuchungsbefunde. Zur genauen TNM-Stadieneinteilung und -gruppierungen s. Tabellen A.1 und A.2 im Anhang.

Bei den Lymphknotenmetastasen wurde klassischerweise der Kapseldurchbruch, als Zeichen der Organüberschreitung und die Fixierung der Lymphknoten untereinander oder an Nachbarstrukturen berücksichtigt.

Heute orientiert man sich hauptsächlich an der Anzahl der befallenen Lymphknoten und ihrer Lokalisation. Hinzugekommen ist ferner die Differenzierung, mit welcher Technik ein Lymphknoten gewonnen wurde, also die besondere Kennzeichnung von Metastasen in einem SLN. Eine weitere Unterscheidung wird außerdem nach Makro- und Mikrometastasen gemacht.



### 2.4 Standardtherapie des Mammakarzinoms

Abhängig von Lokalisation des Primärtumors, TNM-Stadium und Relation von Tumor- zu Brustdrüsenvolumen wird unter Berücksichtigung des Patientinnenwunsches die individuell optimale Therapie für jede Patientin gefunden und mit ihr gemeinsam besprochen und festgelegt.

Prinzipiell bieten sich drei Vorgehensweisen an: die brusterhaltende Therapie (BET), die modifiziert radikale Mastektomie (MRM) und die MRM mit Wiederaufbau, simultan oder sekundär. Im operablen Stadium wird bei den meisten Frauen heute die BET mit anschließender Nachbestrahlung angestrebt, da dieses Verfahren der Mastektomie hinsichtlich der Überlebensraten und des lokalen Rezidivs nach aktueller Studienlage äquivalent ist. Es gilt heute weltweit als Standardverfahren beim frühen Mammakarzinom.

Ist die Brusterhaltung nicht möglich oder von der Patientin nicht gewünscht, wird eine Mastektomie durchgeführt. Bei Resektion im Gesunden ist keine anschließende Bestrahlung notwendig. Auf Wunsch der Patientin und in Abhängigkeit von Allgemeinzustand und Erkrankungsstadium kann in zweiter Sitzung eine plastisch-chirurgische Brustrekonstruktion mit auto- oder heterologem Gewebe oder eine Kombination durchgeführt werden [18].

Die systemische postoperative Therapie richtet sich nach verschiedensten Kriterien, die das Risikoprofil der jeweiligen Patientin beschreiben, wie z.B. Hormonrezeptorstatus, Alter bzw. Menopausenstatus, Allgemeinzustand und TNM-Stadium. Es werden u.a. verschiedene Chemotherapieschemata oder eine langjährige endokrine Therapie, klassischerweise mit dem Antiöstrogen Tamoxifen eingesetzt. Patientinnen mit einer fortgeschrittenen Erkrankung und einer HER2-Überexpression werden mit der Substanz Trastuzumab (Herceptin) behandelt [48].

### 2.5 Der axilläre Lymphknotenstatus

Hinsichtlich der palpatorischen Untersuchung der Axilla wird von falsch-negativ-Raten zwischen 20 % und 27 % und falsch-positiv-Raten zwischen 32 % und 55 % berichtet [64, 65]. Auch die bildgebenden Verfahren, wie Ultraschall, Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) bieten bisher nur An-

haltungspunkte, häufig stimmen die Ergebnisse mit dem postoperativen histopathologischen Befund nicht überein. Klinische Untersuchung und bildgebende Verfahren können somit die histologische Aufarbeitung der Lymphknoten nicht ersetzen, da sie keine ausreichende Sicherheit bei der Beurteilung des axillären Lymphknotenstatus gewährleisten [25, 87].

Da eine histopathologische Untersuchung bisher die einzig zuverlässige Diagnostikstellung erlaubt, sind invasive Maßnahmen zur Entnahme der Lymphknoten notwendig. Als eine solche invasive Methode gehört die Axilladisektion nach wie vor zum Standard und wird in einer Sitzung mit der Operation des Primärtumors durchgeführt [64].

Bei brusterhaltenden Operationsverfahren wird hierfür ein separater Zugang über eine axilläre Inzision gewählt und durch diesen die systematische Ausräumung des Fettgewebes unterhalb der V. axillaris vorgenommen. Es sollen dabei mindestens zehn Lymphknoten aus Level I und II, selten auch aus Level III, entfernt und histologisch untersucht werden.

### 2.5.1 Die Standard-Axilladisektion

Nicht nur diagnostische sondern auch therapeutische Effekte der Standard-Axilladisektion (SAD) im Falle einer stattgefundenen Metastasierung sind beschrieben, die zu einer Verbesserung der lokoregionären Krankheitskontrolle führen [16, 20, 74].

Sofern keine Lymphknotenmetastasen vorliegen, scheint allerdings die operative „Sanierung“ der Axilla nur einen geringen oder keinen Einfluss auf das Überleben der Patientinnen zu haben [24].

Außerdem ist durch die SAD mit einer erhöhten postoperativen Morbidität zu rechnen [38, 45, 60, 70]. Neben einer verlängerten Erholungsphase, Wundschmerz und vorübergehender Bewegungseinschränkung des Armes ist der Eingriff auch mit nicht unerheblichen Risiken verbunden.

Als Frühkomplikationen sind laut Fentiman und Ivens in 7 % Armschwellung und in 28–49 % eine axilläre Ergussbildung zu nennen, außerdem können anhaltende Schmerzen und Taubheit oder Parästhesien der Oberarminnenseite im Versorgungsgebiet des N. intercostobrachialis auftreten [20, 38]. Später können sich motorische Dysfunktionen und in 5–25 % ein Lymphödem einstellen, mit Minderung der Le-

bensqualität und Einschränkung der Arbeitsfähigkeit der Patientinnen [45]. Auf dem Boden des Ödems kann sich in seltenen Fällen ein Lymphangiosarkom entwickeln, wie von Stewart 1948 beschrieben [11, 75].

Ein weiterer Grund, gesunde Lymphknoten nicht zu entfernen, ist in ihrer Rolle in der immunologischen Abwehr begründet. Sie sorgen für Initiation und Aufrechterhaltung der Immunität nach Entfernung des Primärtumors. Disseminierte Tumorzellen in den Lymphgefäßen werden möglicherweise von immunkompetenten Zellen erkannt und zerstört [12, 21, 23].

Versuche an Gewebekulturen konnten zeigen, dass Lymphozyten des lokoregionären Lymphknotens einen inhibitorischen Einfluss auf das Wachstum des Primärtumors in diesem System hatten, vorausgesetzt, der Lymphknoten war nicht massiv von Metastasen durchsetzt [28].

Da zunehmend Mammakarzinome in früheren Tumorstadien diagnostiziert werden, liegt heute, wie von Veronesi 1997 beschrieben, bei einem Großteil der Patientinnen noch kein Lymphknotenbefall vor [84].

### 2.5.2 Der Wächterlymphknoten

Eine Möglichkeit, auf die Beurteilung des axillären Lymphknotenstatus nicht zu verzichten, aber gesunde Lymphknoten zu schonen, könnte die SLNB als minimalinvasiver Eingriff bieten. Hierbei handelt es sich um ein Verfahren, das erstmals beim Peniskarzinom und später beim malignen Melanom Anwendung fand und das der Diagnostik einer lymphogenen Metastasierung in der operativen Tumorthherapie dient [8, 61].

Es hat sich gezeigt, dass Lymphe aus einem bestimmten Gebiet, hier dem Sitz eines Primärtumors, einen (oder mehrere) sogenannte Wächter- bzw. Sentinel-Lymphknoten (SLN) vor allen anderen passiert.

Injiziert man ein radioaktiv markiertes, lymphgängiges Kolloid als Indikatorsubstanz oder einen lymphogen abfließenden blauen Farbstoff ins Gebiet des Tumors, so werden diese Substanzen ebenso in den SLN angereichert wie eventuelle Metastasen. Hat man den SLN auf diese Weise detektiert, kann man ihn isoliert entfernen und untersuchen. Ist er tumorzellfrei, sind mit hoher Wahrscheinlichkeit in den übrigen Lymphknoten ebenfalls keine Metastasen zu erwarten.

Auch beim Brustkrebs hat der SLN die höchste Metastasierungswahrscheinlichkeit von allen Lymphknoten. Nach Ansicht verschiedener Autoren gibt es eine hohe Übereinstimmung zwischen histopathologischer Untersuchung des SLN und der des gesamten axillären Dissektates [5, 7, 8, 31, 46, 64, 87].

Laut Veronesi beträgt die Gesamtgenauigkeit der Methode über 95 % [85]. Ausnahme bilden sogenannte „Skip-Metastasen“ im weiteren Sinne, also Metastasen in einem nicht-SLN, bei histologisch tumorzellfreiem Wächterlymphknoten. Sie werden laut Veronesi in etwa 5 % gefunden [84], in einer anderen Studie wird von einer falsch-negativ-Rate von 6,7 % berichtet [85].

Im engeren Sinne spricht man von „Skip-Metastasen“, wenn die Tumorzellausbreitung einen Level überspringt, d.h. Lymphknoten aus Level II oder III, nicht aber aus Level I befallen sind [86]. Dies ist laut Veronesi nur in ca. 2 % der Fall [84, 86]. Prinzip der SLN-Methode ist, dass sich bei befallenem SLN die SAD anschließt, wohingegen bei metastasenfreiem SLN auf die axilläre Ausräumung verzichtet wird. Die SLNB bietet mehrere Vorteile gegenüber der SAD oder einer Bestrahlung der Axilla [13, 32, 49, 64, 65].

Zum einen verringert die Durchführung eines minimalinvasiven Eingriffs die postoperative Morbidität und verkürzt die Operationszeit. Zum anderen muss eine geringere Anzahl von Lymphknoten untersucht werden, welche aber die höchste Wahrscheinlichkeit für einen metastastatischen Befall haben. Somit wird eine genauere Untersuchung jedes einzelnen Lymphknotens möglich, und der Arbeitsaufwand für den Pathologen verringert sich dennoch.

Laut Giuliano ist durch die gezieltere Entnahme die Detektionsrate von Makrometastasen mit 42 % und eventuell auch diejenige von Mikrometastasen mithilfe der SLNB deutlich höher als die mittels der SAD von rund 29 % [32]. Dadurch sei ein präziseres Staging und eine bessere Selektion von Patientinnen für die adjuvante Therapie durch ein sogenanntes *upstaging* möglich. Erfolgsraten der Methode von bis zu 97,5 % werden beschrieben, mit wenigen bis keinen falsch negativen Befunden, einem hohen negativen prädiktivem Wert und hoher Gesamtgenauigkeit [2, 7, 10, 20, 30, 31, 37, 47, 49, 58, 67, 81, 83, 84].

In Deutschland wird u.a. die Zuverlässigkeit der alleinigen SLNB gegenüber der konventionellen SAD in der Multizenterstudie KISS (Klinische interdisziplinäre Sentinel Studie, Kiel) evaluiert. Nach den neuesten Empfehlungen der Deutschen Ge-

sellschaft für Senologie gilt die SLN-Technik als akzeptierte Methode [44]. Sie kann somit unter bestimmten Voraussetzungen, die eine Abteilung erfüllen muss, in die klinische Routine eingeführt und Patientinnen mit Karzinomen in frühen Stadien, bei denen keine Kontraindikationen vorliegen, angeboten werden.

### 2.5.3 Die Sampling-Methode

Ein weiteres Verfahren zur selektiven Entfernung axillärer Lymphknoten stellt das sog. *sampling* dar, das in einigen Zentren durchgeführt wird [3,34,68]. Hierbei wird die Axilla eröffnet, und es wird eine Stichprobe (engl. *sample*) mit einer festgelegten Anzahl von vier, nach Möglichkeit verdächtigen, also vergrößerten oder verhärteten, Lymphknoten entnommen und stellvertretend untersucht.

Das weitere Vorgehen gestaltet sich analog zur SLNB. Dementsprechend wird nur bei Nachweis von Metastasen in *samples* die SAD durchgeführt. Auch hier ist eine intraoperative Untersuchung der Lymphknoten notwendig, will man auf einen Zweiteingriff verzichten.

### 2.5.4 Bedeutung von Mikrometastasen im Lymphknoten

Nach der aktuellen TNM-Klassifikation gelten solche Tumorzellabsiedelungen als Mikrometastasen, die größer als 0,2 mm, aber kleiner als 2 mm sind und werden als pN1mi klassifiziert [88]. Je nach Publikation wird die Mikrometastasierungsrate der axillären Lymphknoten beim Mammakarzinom mit durchschnittlich 10 % beziffert, wobei die Angaben von 9–31 % variieren [30,35,56,57,71,78,83,86]. Ihre prognostische Bedeutung ist nach wie vor unklar [25,27,73].

So hat laut Ratanawichitrasin und Clare ihre Detektion möglicherweise keinen Einfluss auf das Überleben der betroffenen Patientinnen [9,69]. Ferner sei es unwahrscheinlich, dass bei Mikrometastasen in SLN und kleinem Primärtumor Makrometastasen in anderen Lymphknoten vorlägen. Die klinische Relevanz intraoperativ falsch negativer Befunde wäre somit gering, und diese Patientinnen würden nicht von der SAD profitieren [79].

Andere Untersuchungen haben allerdings bei Patientinnen mit Mikrometastasen eine schlechtere Überlebensrate gezeigt [35,49,56,57,71,78]. Ku forderte deshalb, dass Pathologen unter allen Umständen solche Metastasen auffinden müs-

sten. Ihr Nachweis hätte dann auch einen Einfluss auf die weitere adjuvante Behandlung [13, 14]. Nach Übereinkunft der Deutschen Gesellschaft für Senologie sollten allerdings in Deutschland Patientinnen mit axillären Mikrometastasen bis auf weiteres genauso therapiert werden wie Patientinnen mit Tumorerkrankungen im N0-Stadium [44].

## **2.6 Intraoperative Untersuchungsmethoden axillärer Lymphknoten**

### **2.6.1 Notwendigkeit einer intraoperativen Untersuchungsmethode**

Essentiell für die praktische Anwendung der oben erwähnten, selektiv Lymphknoten darstellenden Verfahren ist es, sie mit zuverlässigen intraoperativen Untersuchungsmethoden zu kombinieren. Es müssen Techniken gefunden werden, die schnell und sicher metastatischen Befall des einzelnen Lymphknotens nachweisen oder ausschließen, also ein intraoperatives Staging ermöglichen [30, 64, 84]. Nur durch sofortige Diagnosestellung kann der Chirurg entscheiden, ob eine SAD zum Zeitpunkt des Ersteingriffs durchgeführt werden soll [49, 83].

Auf diese Weise könnte eine sekundäre SAD, also ein Zweiteingriff, bei Patientinnen mit Lymphknotenmetastasen verhindert werden. Dies würde folglich zu einer geringeren Belastung der betroffenen Frauen führen, sowie einer erheblichen Reduktion von Zeit und Kosten im Operationssaal [52, 71, 79].

Der Anteil an nodal positiven Patientinnen, welche von dieser Vorgehensweise profitieren würden, schwankt je nach Patientenkollektiv. Laut Turner beträgt er 25–30 % [80], laut Veronesi 25 % bei Patientinnen im klinischen Stadium I [84], laut Rubio 30 % bei frühem Brustkrebs [71], Shiver spricht sogar von 40 % [75]. In der vorliegenden Studie ließen sich bei rund 28 % der Patientinnen Makrometastasen nachweisen, alleinige Mikrometastasen bei weiteren 7,8 %.

### **2.6.2 Schnellschnitt**

Bei der Schnell- oder Gefrierschnittuntersuchung (SS) handelt es sich um eine anerkannte intraoperative Untersuchungsmethode in der chirurgischen Tumorthherapie. Ob sie auch bei Lymphknoten die o. g. Forderungen erfüllt, wird in der Literatur kontrovers diskutiert.

Von Befürwortern wird sie als zuverlässig genug angesehen, um einen hohen Anteil von Mammakarzinom-Metastasen in SLN-Lymphknoten ohne falsch positive Ergebnisse nachzuweisen.

Von Vorteil seien zudem die Schnelligkeit der Durchführung, die Verlässlichkeit bei positiven Ergebnissen durch eine nahezu 100 %-ige Spezifität und eine geringe Rate an zweifelhaften Befunden. Ein weiterer Vorteil wird in der Darstellung der Lymphknotenarchitektur gesehen, wobei eine Diagnose durch Betrachtung vieler, im Gewebsverband zusammenhängender Zellen gestellt werden kann. Es können z.B. die Fragen beantwortet werden, ob verdächtige Zellen in einem subkapsulären Sinus liegen oder ob sie den Gewebsaufbau zerstören [13, 79].

Hauptgrund diese Technik nicht anzuwenden ist für deren Gegner der Verlust von Gewebe und eventuell Tumervolumen durch die Herstellung von Blöcken und das Schneiden. Dieses Gewebe stehe dann nicht mehr für die histologische Untersuchung zur Verfügung [13, 49, 55, 66, 79]. Van Diest und Baitchev sprechen von Gewebsverlusten von 25–50 % durch eine reguläre Gefrierschnittherstellung, welche bei der SLNB nicht zu vertreten seien [4, 83].

Resultieren aufgrund dieser, im Kryostaten „verlorenen“ und dadurch übersehenen Metastasen falsch negative Ergebnisse der endgültigen Histopathologie und unterbleibt somit die SAD, könne dies im Folgenden zu nicht mehr therapierbarem lokalem Tumorstadium in den in der Axilla belassenen Lymphknoten, mit fataler Prognose für die Patientinnen, führen [83]. Häufig führe der Herstellungsprozess von Gefrierschnitten außerdem zu Artefakten, die durch Schneiden und Gefrieren entstehen und auch nach dem Einbetten verbleiben. Diese können nicht nur die Befundung des Schnellschnitts selbst, sondern auch der endgültigen histopathologischen Präparate erschweren.

Von Nachteil sei desweiteren, laut Rubio und Van Diest, dass es kaum gelänge, Mikrometastasen nachzuweisen und selbst Makrometastasen nicht mit ausreichender Sicherheit entdeckt würden [71, 83]. Fettig degenerierte Lymphknoten seien schwierig aufzuarbeiten, und die Qualität und somit Beurteilbarkeit der Präparate variere stark von Institut zu Institut. Als weitere Nachteile der Methode werden die relativ hohen Kosten und der Zeitaufwand genannt [66].

In der Literatur gibt es recht unterschiedliche Angaben für die Zuverlässigkeit des Schnellschnitts bei SLN-Präparaten. Die Spezifität lag in den meisten Studien

bei 100 %, die Sensitivität variierte allerdings stark. Veronesi berichtete von einer falsch-negativ-Rate von rund 32 % [85]. Laut Motomura lag die Sensitivität bei 52 %, laut anderen Autoren bei über 90 % [25, 62, 79].

### 2.6.3 Techniken zur Herstellung zytologischer Lymphknotenpräparate

Die zytologische Untersuchung von Lymphknoten, falls zuverlässig genug, könnte anstelle von oder in Kombination mit der Schnellschnittuntersuchung zur intraoperativen Befunderhebung von SLN-Präparaten eingesetzt werden.

Zur Herstellung der Präparate werden in den internationalen Studien unterschiedliche Techniken angewendet. Prinzip ist, dass nach Zerteilung der Lymphknoten Zellmaterial von der Oberfläche gewonnen und nach Fixierung angefärbt wird.

Zunächst wird empfohlen, das Fett vom Lymphknoten mit dem Skalpell abzutrennen [3, 69]. Dann erfolgt die Zerteilung der Lymphknoten ebenfalls mit dem Skalpell, so dass jeweils eine saubere, glatte Schnittfläche entsteht.

Die Lymphknoten können dabei entweder halbiert werden, oder es werden Serienschnitte angefertigt. Bei Serienschnitten hat man das Ziel, durch mehrere Präparate pro Lymphknoten die untersuchte Oberfläche zu maximieren [3, 49, 71]. Dies verbessere nach Ansicht mehrerer Autoren die Beurteilbarkeit und auch Mikrometastasen blieben seltener unentdeckt, da diese oft auf der ersten Schnittfläche nicht zu sehen seien [13, 17, 40, 49, 69, 84].

Nach Aussage von Cserni 2001 spiele auch die Größe der einzelnen Schnittfläche, sowie ihre Lokalisation eine entscheidende Rolle. Verbesserte Ergebnisse seien durch Einschluss des Hilus oder der Eintrittsstelle des zuführenden Lymphgefäßes in die Schnittführung zu erwarten. Dies sei erkennbar bei Anwendung von Methylblau als Markersubstanz. Die gewählte Ebene sollte außerdem den größten Knotendurchmesser erfassen [13].

Die so gewonnene/n Schnittfläche/n sollte/n zunächst makroskopisch sorgfältig nach Anzeichen für eine eventuell stattgefundene Metastasierung untersucht werden [49]. Um anschließend Zellmaterial auf einen Objektträger zu bringen, gibt es zwei Möglichkeiten, die Abklatschmethode und das *scraping*.

**Abklatschzytologie** Häufig angewendet wird die Abklatschtechnik. Hierbei wird jeweils die frische Schnittfläche sanft auf einen sauberen, trockenen, unbeschichteten



Objektträger aufgetupft, laut Rubio ähnlich dem Aufdrücken einer Briefmarke auf Papier [71]. Jede Gleitbewegung sollte man vermeiden, da diese die Form der Zellen zerstören kann, und die Abdrücke sollten sich nicht gegenseitig überlappen [49].

**Die Scraping-Technik** Die andere Technik, das sogenannte *scraping*, wird besonders von Silverberg in [76] empfohlen und von Ratanawichitrasin, Karamlou und Smidt angewendet. Hierbei kratzt man Zellmaterial mit einem Skalpell oder mit der Kante eines Objektträgers von der Lymphknoten-Schnittfläche ab und verteilt es auf einen zweiten, sauberen Objektträger. Vorteilhaft sei, dass die Anzahl untersuchter Zellen hierdurch erhöht würde [42, 69, 77, 83]. Nach Rubio führe dies allerdings zu übermäßig dicken Präparaten mit Überlappung der Einzelzellen und somit unnötig erschwelter Beurteilung, was die Zuverlässigkeit der Methode limitieren würde [71].

**Fixierung und Anfärbung** Unabhängig von der Herstellung der Präparate, aber abhängig von der angewendeten Färbetechnik, muss die entsprechende Fixierung durchgeführt werden. So werden die Objektträger z.B. luftgetrocknet oder in 95 %-igen Alkohol gegeben und anschließend angefärbt. In den meisten internationalen Studien wurde nur eine Färbung verwendet, z.B. Hämatoxylin-Eosin (HE), Papanicolaou (PAP) oder Diff Quick (DQ). Es wurden aber auch zwei Färbungen miteinander verglichen, so z.B. May-Grünwald-Giemsa (MGG) und DQ, DQ und HE und HE oder PAP und Giemsa (s. Tabelle B.2). In einigen Zentren führte man zusätzlich Schnell-IHC-Verfahren durch. Die Detektionsrate von Mikrometastasen würde hierdurch nach Cserni von 43 % auf 87 % erhöht [13].

### 2.6.4 Eigenschaften der Abklatschzytologie von Lymphknoten

Studienergebnissen verschiedener Autoren zufolge ist die Abklatschzytologie eine wertvolle Methode, um den axillären Lymphknotenstatus intraoperativ zu bestimmen. Sie sei einfach, schnell und kosteneffektiv, aber dennoch zuverlässig und zerstöre nicht das Gewebe wie der SS. Außerdem erhalte man klare zytologische Informationen und ein genaues Zellbild [3, 13, 39, 49, 62, 68, 71, 79].

Als großer Nachteil der Zytologie wird allerdings von anderen Autoren gesehen, dass die Anzahl der untersuchten Zellen relativ gering und die Chance zweifelhaf-

**Tabelle 2.2:** Eigenschaften intraoperativer Untersuchungsmethoden

Abklatschzytologie (Zell diagnose)	Schnellschnitt (Gewebs diagnose)
<i>Vorteile</i>	
+ maligne Epithelzellhaufen zwischen benignen lymphatischen Zellen	+ Lymphknotenarchitektur sichtbar
+ schnell, einfach, kostengünstig	+ weniger zweifelhafte Befunde
+ gewebsschonend, materialsparend	+ bekannte, etablierte Technik
+ keine Gewebsartefakte	+ hochspezifisch
+ Kombination mit Schnell-IHC möglich	+ Unterscheidung zwischen Makro- und Mikrometastasen möglich
+ Serienschnitte möglich	+ Kombination mit Schnell-IHC möglich
<i>Nachteile</i>	
– fehlender Gewebzusammenhang	– Materialverlust von bis zu 50 %
– mehr zweifelhafte Befunde	– Gefrierschnittartefakte
– schwierig bei entzündlich oder regressiv veränderten Lymphknoten	– zeitaufwendiger, besonders bei Serienaufarbeitung
– Stichprobenfehler besonders bei kleinen Metastasen	– kostenintensiver, besonders in der Anschaffung
– kann nicht zwischen Makro- und Mikrometastasen unterscheiden	– schwierig bei entzündlich oder regressiv veränderten Lymphknoten

ter und falsch negativer Befunde somit groß sei [13, 62, 79]. Uneinigkeit besteht außerdem bei den Fragen, welchen Stellenwert die Zytologie im Vergleich zu anderen Verfahren hat und welcher Anteil an Lymphknotengewebe tatsächlich durch die einzelnen Verfahren erfasst wird.

Um dies genauer zu betrachten, wurde von Cserni 2001 untersucht, ob das zytologische Ergebnis in Übereinstimmung mit dem der Histologie des gesamten Lymphknotens oder nur mit dem der zytologisch betrachteten Oberfläche, also der ersten Schnittfläche, ist [13].

Hierbei zeigte sich, dass eine hervorragende Übereinstimmung zwischen Zytologie und Histologie in Bezug auf die Schnittfläche herrscht, sich viele Metastasen aber in anderen Ebenen des Lymphknotens befinden und deshalb von der Zytologie bei einfacher Zerteilung nicht erfasst werden. Es läge somit also kein Versagen

der zytologischen Methode selbst vor, wenn diese Metastasen nicht entdeckt würden, sondern ein Stichprobenfehler. Durch die Anfertigung von Serienschnitten ließe sich dieses Problem umgehen. Dies würde allerdings auch eine deutliche Erhöhung von Arbeits- und Zeitaufwand mit sich bringen.

Eine Kombination der Zytologie mit immunhistochemischen Schnellmethoden ist möglich. Hierdurch könne laut Ku die Sensitivität und Spezifität für Metastasen auf der betrachteten Oberfläche erhöht und die Einordnung zweifelhafter Befunde verbessert werden [49]. Auch dieses Vorgehen führe allerdings zu einer Steigerung der Kosten und des Aufwands für die Präparatherstellung, wobei eine Verzögerung von rund einer Stunde einigen Autoren durchaus vertretbar erschien [55,64,72,89].

Insgesamt wird in den meisten aktuellen Arbeiten die intraoperative Anwendung der Abklatschzytologie zur Diagnostik von Lymphknotenmetastasen empfohlen und zwar allein oder in Kombination mit dem SS.

### **Problematik der zweifelhaften Befunde**

Die zytologischen Befunde werden in den internationalen Arbeiten meist in drei Kategorien eingeordnet: positiv, bei eindeutigem Metastasenbefall, negativ, bei Lymphknoten ohne Anhalt für Metastasen und zweifelhaft bzw. verdächtig, wenn metastatischer Befall nicht eindeutig auszuschließen ist [13,49,71].

Zum Zeitpunkt der Studien befanden sich die meisten Abteilungen noch in der Trainingsphase der SLNB, d.h. die SAD wurde in jedem Fall unabhängig vom Ergebnis der intraoperativen Untersuchungen durchgeführt. Später würde laut allen bisherigen Publikationen bei zweifelhaften Befunden vorgegangen, als wären keine Metastasen vorhanden, d.h., es würde keine SAD vorgenommen. Nur bei sicher positiven SLN würde eine SAD in gleicher Sitzung durchgeführt. Bei falsch negativem Befund der Zytologie wäre dementsprechend ein Zweiteingriff notwendig.

Von einigen Autoren wurde die Vermutung geäußert, dass die Rate an zweifelhaften Befunden steigen könnte, wenn die Durchführung der SAD vom Ergebnis der Zytologie abhinge.

### Untersucherabhängigkeit

Bei den Untersuchern, die zytologische Präparate ohne Kenntnis histopathologischer Ergebnisse oder Patientendaten befundeten, handelte es sich in den meisten Studien um ausgebildete Pathologen mit entsprechenden Vorkenntnissen und Erfahrung. Dies wurde von einigen Autoren besonders betont und gefordert [13, 49, 69, 71, 79]. Der Untersucher benötige nämlich ausreichende Erfahrung, um die Methode zuverlässig anwenden zu können. Dies würde sowohl für die Anfertigung als auch die Befundung der Präparate gelten. Nur so könnten die nicht unerheblichen Fallstricke der Technik umgangen werden [49].

Nach Cserni ließe sich hierdurch besonders die falsch-positiv-Rate minimieren [13]. Rubio folgert, dass die Anwendung in einem Haus ohne aktive zytopathologische Abteilung wahrscheinlich nicht zu befriedigenden Ergebnissen führe [71].

Allerdings wurde bisher die Untersucherabhängigkeit, also die Frage, inwieweit die Befunde bei mehreren, voneinander unabhängigen Untersuchern übereinstimmen, in den meisten Studien noch nicht berücksichtigt. Ausnahmen waren Turner, der aber nur gemeinsame Ergebnisse für SS und Zytologie darstellte [80] und Lambah, der zwei Untersucher miteinander verglich [51].

### 2.6.5 Literaturübersicht

In der aktuellen Literatur finden sich zahlreiche Untersuchungen über die Zuverlässigkeit der intraoperativen Zytologie. Eine Leitlinie für die klinische Routine gibt es allerdings bisher nicht. Aufgrund des uneinheitlichen Studienaufbaus lassen sich die Arbeiten nur bedingt miteinander vergleichen (s. Tabelle B.2).

Zum einen wurden teilweise auch Patientinnen mit klinisch positiven Lymphknoten bis cN1 und in einer Arbeit bis cN3 nach der SLN-Technik operiert. Zum anderen wurden in einigen der Studien auch Lymphknoten von Patientinnen im Tumorstadium 3 oder 4 untersucht. Hieraus resultieren unterschiedliche Metastasierungsraten und ein unterschiedlicher Anteil stark befallener Lymphknoten. Die so gewonnenen Ergebnisse sind auf die Studienverhältnisse der vorliegenden Arbeit, bei der nur Patientinnen mit klinisch negativem axillärem Untersuchungsbefund und Tumorstadien bis T2 eingeschlossen wurden, nur schlecht übertragbar (s. Abschnitt 4.1.1). Die meisten der im folgenden aufgeführten Arbeiten berichten von vielver-

sprechenden Ergebnissen. Die Autoren empfehlen zur intraoperativen Schnellbefundung axillärer Lymphknotenpräparate die Anwendung zytologischer Verfahren allein oder in Kombination mit dem SS.

Motomura et al. stellten bei 153 SLN von 101 Patientinnen mit Tumoren in frühen Stadien und teilweise klinisch positivem axillärem Untersuchungsbefund zytologische Präparate her. Serienschnitte wurden angefertigt, sofern der jeweilige SLN größer als 4 mm im Durchmesser war. Dabei erzielten sie auf Knotenbasis (s. Abschnitt 4.5.4) eine Sensitivität von 90,9 %, wobei die acht Mikrometastasen nur mittels IHC und Zytologie, nicht aber mit den anderen Methoden nachgewiesen wurden. Die Zytologie sei somit besser im Metastasennachweis als der SS und sogar besser als die konventionelle Histologie gewesen. Die Spezifität betrug 98,2 % und die Gesamtgenauigkeit 96,7 % [62].

Ratanawichitrasin et al. fertigten bei Lymphknoten-Durchmessern  $\geq 8$  mm ebenfalls Serienschnitte an und verwendeten eine besondere Technik zur Herstellung der zytologischen Präparate, nämlich das *scraping* (s. Abschnitt 2.6.3). Die Präparate wurden mit der HE-Färbung angefärbt. Untersucht wurden 138 SLN von 55 Patientinnen. Eine histologische IHC oder der SS wurden nicht durchgeführt. Die Berechnung der Ergebnisse erfolgte nur auf Patientenbasis. Die Sensitivität betrug 82 %, die Spezifität 100 %, der positive prädiktive Wert 100 % und der negative 93 %, die Gesamtgenauigkeit 95 %. Besonders erwähnt wird, dass bei einer Patientin eine lymphatische Mikrometastasierung vorlag. Diese wurde nur von der Histologie, nicht aber von der Zytologie entdeckt. Die Zytologie wurde als hochgradig nützlich für intraoperative Schnelldiagnosen eingestuft [69].

Cserni et al. entnahmen im Rahmen ihrer Studie 72 SLN von 60 Patientinnen mit Mammakarzinomen in teilweise schon fortgeschritteneren Tumorstadien. Nur SLN mit einem Durchmesser  $> 5$  mm wurden zytologisch untersucht und nach einfacher Zerteilung einer HE-Färbung zugeführt. Die zytologischen Befunde wurden zum einen mit den Ergebnissen der endgültigen Histologie und IHC des gesamten Lymphknotens verglichen, zum anderen mit der gezielten Histologie der Schnittfläche. Hierbei zeigte sich eine Übereinstimmung von 92 %. In Bezug auf den Status des gesamten Lymphknotens betrug diese aber nur 77 %. Es kam somit zu einem Abfall der Sensitivität auf Knotenbasis von 83 % auf 56 %. Als Ursache hierfür wurde genannt, dass nicht alle Metastasen auf der ersten, zentralen Schnittfläche lo-

kalisiert seien. Die Zuverlässigkeit der Zytologie sei eingeschränkt, solange die SLN nur einfach zerteilt würden. Dennoch wurde die Anwendung empfohlen, besonders in Häusern, in denen der SS einen niedrigeren Qualitätsstandard aufweist. In anderen Abteilungen könnten die beiden Methoden in Kombination angewendet werden. Niedrige Kosten, Schnelligkeit und die Tatsache, dass keine Artefakte in den Präparaten hinterlassen werden, müssten gegen die Notwendigkeit eines Zweiteingriffs bei falsch negativen Befunden abgewogen werden [13].

Anastasiadis et al. führten eine Studie zur Lymphknotenzytologie an 127 Patientinnen mit Tumoren im Stadium T1–3 und CN0–1 durch, denen 635 Lymphknoten mittels der *sampling*-Methode entnommen wurden. Sie verwendeten eine Giemsa- und die HE-Färbung, nachdem sie den Lymphknoten einfach durchteilt und abgeklatscht hatten. Die Ergebnisse wurden für beide Färbungen getrennt angegeben. Die Gesamtgenauigkeit der HE-Färbung betrug 91 % mit einer Sensitivität von 96 %, einer Spezifität von 83 % und einem positiven prädiktiven Wert von 94 %. Bessere Ergebnisse wurden mit der anderen Färbung erzielt. Hier ergab sich eine Gesamtgenauigkeit von 94 %, eine 97 %-ige Sensitivität, eine 90 %-ige Spezifität und ein positiver prädiktiver Wert von 92 %. Als besonders schnelle und zuverlässige Methode empfahlen sie die intraoperative Anwendung, um ein besseres Staging zu erzielen und somit Patientinnen mit Erkrankungsstadium I von weiteren therapeutischen Maßnahmen auszuschließen. Es handele sich um eine gute Alternative zum SS, welcher in dieser Studie nicht angewendet wurde [3].

Ku untersuchte in mehreren Studien die Zuverlässigkeit der Zytologie mittels DQ- und IHC-Färbung und empfahl die Einführung der Methode in makroskopisch positiven Fällen, also zur genaueren Untersuchung makroskopisch schon stark befallener oder verdächtiger Lymphknoten. Hier würde man mit der Anwendung zur Verdachtsbestätigung gute Ergebnisse erzielen. Er führte Studien an 83 Patientinnen und 161 Lymphknoten, 86 Patientinnen und 118 Lymphknoten (davon 9 makroskopisch positiv, 109 makroskopisch negativ) und 478 Patientinnen und 305 Lymphknoten durch. Die Lymphknoten wurden, je nach Größe, halbiert oder in Serienschnitten aufgearbeitet und mit HE angefärbt. Die Sensitivität betrug bei grob befallenen Lymphknoten 100 %, ansonsten seien mit der konventionellen Methode falsch negative Ergebnisse „üblich“: die Sensitivität sank auf 78 % bei makroskopisch negativen Lymphknoten. Bei Anwendung zytologischer IHC betrug die Sensi-

vität 95 %, die Spezifität 99,7 %. Es wurde besonders auf die notwendige Anwesenheit einer aktiven zytopathologischen Abteilung vor Ort hingewiesen. Nur so könnten zytologische Präparate zuverlässig angefertigt und befundet werden [49, 50].

Von hervorragenden Ergebnissen (Sensitivität 98 %, Spezifität 100 %) berichteten Fisher et al. Sie nannten sogar 4 Fälle, in denen Mikrometastasen von der Zytologie als einziger Methode gefunden wurden. Da auch die durchgeführte IHC keine atypischen epithelialen Zellen nachweisen konnte, handelte es sich möglicherweise um falsch positive Zytologie-Befunde. Diese Möglichkeit wurde von den Autoren nicht berücksichtigt und eine 100 %-ige Spezifität ist somit in Frage gestellt. Diese Studie an 50 Patientinnen (61 Lymphknoten-*samples*) war eine Pilotstudie zu der Folgestudie von Hadjiminis et al. Bei letzterer wurden 456 Lymphknoten von 114 Patientinnen untersucht. Hier betrug die Sensitivität nur noch knapp 93 %, die Spezifität 100 %. Es wurden aber drei zytologisch positive Befunde erwähnt, die histologisch negativ waren. Das Vorliegen falsch positiver Befunde wurde wiederum nicht in Betracht gezogen. Ein „Gold-Standard“ z.B. in Form von IHC-Anwendung in der endgültigen Histologie wurde nicht angewendet. Somit kann diese Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden. Da in diesem Artikel mehr die *sampling*-Methode, nicht so sehr die intraoperativen Verfahren zur Untersuchung der *samples* diskutiert wurden, können über die Bedeutung solcher Ergebnisse keine weiteren Aussagen getroffen werden [25, 34].

Ebenfalls keine IHC angewendet wurde in einer Studie von Lee et al. an 155 SLN von 64 Patientinnen (pT1–3). Histologie und Zytologie galten jeweils als „Goldstandard“ für ein positives Ergebnis. Ein solches in einer der beiden Untersuchungen galt als ausschlaggebend für die Diagnose „Metastase“. Es wurde zwar erwähnt, dass im Verlauf der Studie die IHC als Zusatzuntersuchung eingeführt wurde, dies hatte aber keinen Einfluss auf die Studienergebnisse an sich. Die Daten von vier histologisch und zytologisch falsch befundeten Fällen wurden nicht aufgezeigt. Es handelte sich um weitere, nachträglich entdeckte Mikrometastasen. Unter diesen Umständen ist eine 100 %-ige Spezifität der Zytologie fragwürdig. Es wurde z.B. ein Fall erwähnt, in dem die Zytologie positiv und die Histologie negativ war, was als Fehler der Histologie gewertet wurde. Die Sensitivität auf Knotenbasis betrug beim Vergleich von Histologie und Zytologie 56 %, wobei über 80 % der falsch negative Befunde auf eine Mikrometastasierung zurückzuführen seien. Die angefertigten Se-

rienschnitte wurden mit DQ und PAP gefärbt, Unterschiede in der Zuverlässigkeit wurden nicht erwähnt [52].

In der Studie von Nogushi et al. konnte bei 62 Patientinnen von 72, die mittels der SLN-Technik operiert wurden, der SLN identifiziert werden. Davon wurden bei 38 Patientinnen die entnommenen SLN (durchschnittlich 2,5 SLN pro Patientin) zytologisch untersucht. Die Lymphknoten wurden halbiert, es wurden je zwei Abklatschpräparate angefertigt und mit May-Giemsa und Zytokeratin angefärbt. Die Gesamtgenauigkeit für die Kombination einer konventionellen und einer IHC-Methode betrug 82 % mit einer Sensitivität von 46 % und einer 100 %-igen Spezifität. Ein signifikanter Unterschied zu den Schnellschnittergebnissen konnte nicht festgestellt werden. Bei Kombination der beiden Techniken stieg die Gesamtgenauigkeit auf 92 % an bei einer Sensitivität von 77 %. Es wurde empfohlen, die Bedeutung dieser Ergebnisse anhand weiterer Studien zu überprüfen [64].

Van Diest et al. erachteten aufgrund ihrer Erfahrungen die zytologische Methode für nur bedingt zuverlässig genug, um sie für den klinischen Einsatz zu empfehlen. Ausnahme seien Kliniken, in denen ein SS nicht verfügbar oder qualitativ minderwertiger ist. Sie hätten mit dem SS bessere Erfahrungen gemacht und hielten ihn deshalb für die Methode erster Wahl bei der intraoperativen Untersuchung von Lymphknoten-Präparaten [14, 15, 83].

Rubio et al. führten eine Studie an 55 Patientinnen durch, denen sie 93 SLN und 124 Nicht-SLN entnahmen und diese zytologisch (HE-Färbung) untersuchten. Mit einer 100 %-igen Spezifität, einer 95,7 %-igen Sensitivität und einer Gesamtgenauigkeit von 99,2 % wurde die Methode für die klinische Anwendung als intraoperatives Diagnostikum empfohlen. Voraussetzung hierfür sei allerdings, dass ein Zytologe die Untersuchungen durchführe, da Erfahrung notwendig sei, um ausreichende Zuverlässigkeit zu gewährleisten. Zwei Mikrometastasen wurden in den SLN nachgewiesen und beide durch die Zytologie entdeckt, wobei allerdings keine IHC durchgeführt wurde [71].

In einer weiteren Studie am Arkansas Cancer Research Center wurden von Henry-Tilman et al. 479 SLN von 274 Patientinnen untersucht. Ziel war es, die 4-Jahres-Erfahrungen mit intraoperativen Untersuchungsmethoden, wie SS und Zytologie, auszuwerten. Es zeigte sich für die Zytologie eine Sensitivität von 94,2 %, eine Spezifität von 99,7 % und eine Gesamtgenauigkeit von 98,9 %. Es wurden somit bessere



Ergebnisse als mit dem SS erzielt (85,7 %, 98,6 % und 96,7 %). Referenzmethode war die endgültige Histopathologie ohne Anwendung der IHC. Aufgrund dieser Ergebnisse und der schnellen und einfachen Durchführung wurde die intraoperative Anwendung der Abklatschzytologie anstelle des SS empfohlen [36].

Turner et al. führten Studien an 278 Patientinnen durch. Ziel war die Beurteilung intraoperativer Untersuchungsmethoden. Hierzu wurden SS und Zytologie kombiniert, wobei Einzelergebnisse nicht vorliegen. Besondere Berücksichtigung fand die Korrelation der Ergebnisse mit Tumorstadium und -typ, SLN-Durchmesser und Erfahrung des Untersuchers. Die Sensitivität wurde nach Makro- und Mikrometastasen getrennt ausgewertet. Bei Mikrometastasierung fiel sie für die beiden Methoden von 98 % auf 28 %. Falsch positive Befunde seien nicht vorgekommen. Die Gesamtgenauigkeit betrug 93,2 %. Es zeigte sich, dass die Treffsicherheit der Befunde umso größer war, je größer der Primärtumor, der betroffene SLN, die Lymphknoten-Metastase und die Erfahrung des Untersuchers waren. Metastasen eines duktales Karzinoms seien ebenfalls besser nachgewiesen worden, als jene anderer Tumortypen. Insgesamt seien SS und Zytologie gleichermaßen geeignet, falls Makrometastasen nachgewiesen werden sollen. Falls Mikrometastasen über die Durchführung einer SAD mitentscheiden würden, seien sensitivere Untersuchungsmethoden notwendig, um einen Zweiteingriff zu vermeiden [79,80].

Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Shiver et al. und Creager et al. Sie führten eine retrospektive Studie an 132 Patientinnen mit 277 entnommenen Lymphknoten durch. Es wurde von einer Sensitivität von 61 % auf Knotenbasis und einem negativen prädiktiven Wert von 94 % berichtet. Falsch positive Ergebnisse kamen nicht vor, somit betrugen Spezifität und positiver prädiktiver Wert je 100 %. Im Gegensatz zueinander standen die Ergebnisse bei Makro- und Mikrometastasen (Sensitivität von 87 % gegenüber 22 %). Es bestand also eine deutliche Abhängigkeit der Befundzuverlässigkeit von der Metastasengröße. Von einer zweiten retrospektiven Studie an 646 Patientinnen bzw. 1255 SLN wurde berichtet. Hier zeigte sich bei einer noch geringeren Gesamtsensitivität (53 %) wiederum eine starke Abhängigkeit von der Metastasengröße (81 % gegenüber 21 %). Aufgrund von sieben falsch positiven Befunden betrug die Spezifität 98 % und der positive prädiktive Wert 94 %. Eine signifikante Abhängigkeit der Werte vom beteiligten Tumortyp (duktal oder lobulär) ließ sich allerdings nicht nachweisen. Die Gesamtgenauigkeit lag bei 84 %. Auf-

grund ähnlicher Ergebnisse für Sensitivität und Spezifität des Schnellschnitts wird die alternative Anwendung empfohlen. Für die Detektion von Mikrometastasen seien jedoch sensitivere intraoperative Methoden notwendig, um die Operation in einer Sitzung durchführen zu können [11, 75].

Smidt et al. untersuchten in einer Studie an 268 einfach zerteilten Lymphknoten von 148 Patientinnen die Zuverlässigkeit der *scraping*-Zytologie mittels Anfärbung der Präparate mit PAP und Giemsa. Sie erzielten eine 67 %-ige Sensitivität auf Patientenbasis, wobei 10 von 20 Patientinnen mit falsch negativem Befund einen mikrometastatischen Befall der Axilla hatten. Es ergab sich eine 98 %-ige Spezifität, sowie eine Gesamtgenauigkeit von 85 %. Der positive prädiktive Wert betrug 95 %, der negative 81 %. Unterschiede zwischen den Färbungen wurden nicht erwähnt, sondern die Ergebnisse für beide zusammengezogen. Maximal drei Lymphknoten pro Patientin wurden zytologisch untersucht. Wurde eine größere Anzahl identifiziert, wurden die drei verdächtigsten ausgewählt. Dieses Vorgehen birgt die Gefahr einer Vorselektion und somit eines „nach-oben-Korrigierens“ der Sensitivität [77].

Karamlou et al. erzielten in einer großangelegten Studie eine 75,3 %-ige Sensitivität bei der zytologischen Untersuchung von 446 SLN von 142 Patientinnen mit Brustkrebs in frühen Stadien. Technik war das *scraping* von Serienschnitten und die Anfärbung mit HE. Fast alle falsch negativen Befunde seien auf das Vorliegen von Mikrometastasen zurückzuführen gewesen. Somit sei diese Technik hochsensitiv und aufgrund zahlreicher Vorteile gegenüber dem SS die intraoperative Untersuchungsmethode der Wahl für SLN-Biopsate. Eine immunhistochemische Histologie wurde nicht durchgeführt [42].

Llatjós et al. sprachen ebenfalls Empfehlungen aus, die Abkratz-Zytologie zur intraoperativen Befunderhebung beim T1–2-Mammakarzinom zu verwenden. Sie räumten hierbei aber auch die Möglichkeit einer notwendigen Zweitoperation im Falle von mikrometastatischem Befall des SLN ein. Mikrometastasen würden selbst bei Serienschnitten im 2 mm-Intervall der Befunderhebung leicht entgehen. 8 von 10 falsch negativen Befunden waren in der vorliegenden Studie durch übersehene Mikrometastasen zu erklären, nur eine Mikrometastase wurde überhaupt entdeckt. Dies würde eventuell eine Reoperation in ca. 13 % notwendig machen, abhängig von der Bedeutungszumessung eines mikrometastatischen Befalls. Die Studie wurde an 76 SLN von 76 Patientinnen durchgeführt, wobei je ein Lymphknoten zur intra-

operativen Befundung aus den vorhandenen SLN ausgewählt wurde. Ein solches Vorgehen ist allerdings, ähnlich wie bei Smidt et al. in [77] fraglich, da es zu einer Selektion zugunsten makroskopisch befallener Lymphknoten führen kann. Besonders bei Berechnung der Ergebnisse auf Patientenbasis, im Gegensatz zur Berechnung der Ergebnisse auf Knotenbasis kann dies zu einer scheinbar höheren Gesamtgenauigkeit führen. Die Sensitivität betrug 67,7 % (91,3 % ohne Mikrometastasen), bei einer Gesamtgenauigkeit von 86,8 % und einem negativen prädiktiven Wert von 81,8 %. Falsch negative Befunde kamen nicht vor. Zur umfassenderen zytologischen Analyse wurden Feinnadel-Aspirationsbiopsate des Primärtumors als Hintergrundinformation zur Hilfe bei der SLN-Zytomorphologie-Analyse hinzugezogen. Eine weitere Besonderheit der Arbeit bestand darin, dass neben der MGG-Färbung zusätzlich postoperativ und nicht verblindet in einer Kollateralstudie eine Schnell-IHC angewendet und von demselben Pathologen in Zusammenschau mit den MGG-gefärbten Präparaten beurteilt wurde. Allerdings brachte diese Technik kaum Vorteile bei dem Nachweis von Mikrometastasen. Dies sei wahrscheinlich auf die falsche Stichprobenauswahl, nicht auf mangelnde Sensitivität zurückzuführen. Kleine Metastasen entgingen häufig der Schnittführung. Es steht noch zu erwähnen, dass eine Lernkurve bezüglich der Erkennung von Makrometastasen, nicht aber in Bezug auf Mikrometastasen beobachtet wurde. Bei den Makrometastasen traten falsch negative Befunde früh auf, ihre Häufigkeit nahm im Studienverlauf ab, bei der Mikrometastasenerkennung fanden sie sich hingegen gleichmäßig im Verlauf der gesamten Studie [55].

Salem et al. führten 2002 eine Studie an 30 Brustkrebspatientinnen in Erkrankungsstadium I und II durch. Bei den 344 entnommenen Lymphknoten handelte es sich teils um SLN (5 Patientinnen), teils um durch *sampling* (2 Patientinnen) und teilweise um durch eine SAD (23 Patientinnen) gewonnene Lymphknoten. Bei der zytologischen Methode handelte es sich um eine konventionelle Färbung mit HE, sowie eine Schnell-IHC, die je ein Abklatschpräparat von der Schnittfläche einfach zerteilter Lymphknoten anfärbten. Ein positives und ein negatives Kontrollpräparat standen zur Verfügung. Die getrennt berechneten Ergebnisse betrugen für die Sensitivität auf Knotenbasis mit der IHC 96,7 % und mit der HE-Färbung 93,3 %. Besonders betont wurde die Notwendigkeit eines erfahrenen Zytopathologen für die Befundung zytologischer Präparate ohne IHC, die möglicherweise den universellen

Einsatz der Methode beschränke. Die IHC sei weitgehend untersucherunabhängig, wobei die Untersucherabhängigkeit nicht getestet wurde [72].

In ihrer Studie an 128 SLN von 87 Patientinnen mit Mammatumoren in frühen Stadien kamen Baitchev et al. zu dem Ergebnis, dass eine Gesamtgenauigkeit von 94,5 % (Sensitivität 88,8 %, Spezifität 96,7 %, je auf Knotenbasis) die routinemäßige Anwendung als intraoperatives Diagnostikum rechtfertige. Die Sensitivität bei Einschluss der Mikrometastasen fiel auf 83,3 %. Vorteilhaft sei besonders im Vergleich zum SS, dass dieser zu Verlust von 25–50 % des Materials führe und mit einer signifikanten falsch-negativ-Rate assoziiert sei. Die Abklatsch-Zytologie hingegen erhalte das Lymphknotenmaterial für die weitere Diagnostik und sei einfach und kostengünstig durchzuführen. Nachteilig sei die geringe Anzahl von beurteilbaren Zellen, die allerdings durch Vergrößerung der untersuchten Oberfläche, also durch Mehrfachzerteilung der Lymphknoten, erhöht werden könne. In einigen Fällen könnten sich Interpretationsschwierigkeiten ergeben, wenn aktivierte Endothelzellen und epitheloide Histiozyten als atypische Zellen erschienen. Weitere Verbesserung der Ergebnisse sei durch die Anwendung von Schnell-IHC zu erlangen. Außerdem sei ein in Zytopathologie geschulter Pathologe bei der Methode notwendig, um eine akzeptable Sensitivität zu erzielen und falsch positive Befunde zu vermeiden. In dieser Arbeit wurden die Lymphknoten ein-, bei einem Knotendurchmesser < 10 mm oder mehrfach zerteilt und die Präparate mit HE angefärbt. Die Ergebnisse wurden mit denen der endgültigen Histologie und IHC verglichen [4].

Yu et al. berichteten von ihren Ergebnissen der SLNB bei 77, an Frühstadien von Brustkrebs erkrankten, Patientinnen in Taiwan. Ziel der Studie war es, Vergleiche zwischen Japan bzw. anderen asiatischen Ländern und westlichen Ländern unter Anwendung derselben Methoden zu ziehen. Unterschiede zwischen Taiwan und westlichen Ländern gäbe es laut Yu hinsichtlich Krankheitscharakteristika und Epidemiologie. Typisch seien eine geringere Inzidenz, ein früheres Erkrankungsalter, schlechtere Prognose und frühere Krankheitsstadien in Taiwan. Die Ergebnisse der diagnostischen Methoden unterschieden sich allerdings im Vergleich mit der Weltliteratur nicht wesentlich. Unter anderem wurden von den entnommenen SLN (1–5 pro Patientin) auch zytologische Präparate angefertigt. Je nach Größe wurden die Lymphknoten ein- oder mehrfach zerteilt und abgeklatscht. Anschließend wurden die Präparate mit DQ und einer Schnell-IHC angefärbt und von einem erfahrenen

Zytologen befundet. Im Vergleich zu der endgültigen Histologie ergab sich eine Gesamtgenauigkeit von 97,4 %, bei Anwendung der Schnell-IHC sogar von 98,7 %. Die Sensitivität betrug 97,4 %, der negative prädiktive Wert 98,2 %. Falsch positive Ergebnisse kamen nicht vor. Somit wurde die Methode als eine genaue und schnelle Alternative zu Paraffinschnitten angesehen. Auch Mikrometastasen sollen im SLN erkannt werden können, die bei der Routine-Histologie möglicherweise verborgen blieben. Dem Chirurgen würde die intraoperative Entscheidung für oder gegen eine SAD erleichtert, wobei eine einstündige Wartezeit auf die Befunde vertretbar erscheine [89].

Kane et al. untersuchten an 150 Patientinnen in frühen Erkrankungsstadien die Qualität von makroskopischer und zytologischer Untersuchung, wobei von halbierten SLN Abklatschpräparate mit HE angefärbt wurden. Die Ergebnisse wurden mit denen der endgültigen Histologie und IHC verglichen. Obwohl mithilfe dieser Vorgehensweise nur etwas mehr als der Hälfte der Patientinnen mit positivem SLN bei einer Sensitivität von 54 % ein Zweiteingriff erspart bliebe, wurde sie von den Autoren für den Routineeinsatz empfohlen. Der entscheidende Vorteil gegenüber dem Schnellschnittverfahren sei im geringeren Zeitaufwand und der Schonung des Lymphknotengewebes zu sehen, welches der anschließenden histologischen Aufarbeitung zugeführt wird [41].

In einer Studie an DQ-gefärbten SLN-Präparaten von 53 Patientinnen kamen Bochner et al. zu ähnlichen Ergebnissen. Bei einer falsch-negativ-Rate von 47 % zogen sie den Schluss, dass die Methode zu empfehlen sei, da über 50 % der SLN-positiven Patientinnen eine Zweit-Operation erspart bliebe. Trotz der zytologischen Untersuchung von 1–2 µm dicken Serienschnitten durch zwei ausgebildeten Zytologen konnten Mikrometastasen nicht detektiert werden [6].

Mullenix et al. untersuchten den Nutzen der Abklatschzytologie von HE- und DQ-gefärbten Serienschnitten von 162 SLN. Sie vertraten bei einer Sensitivität von 47 % ebenfalls die Auffassung, dass es sich bei dieser Methode um eine effiziente Bereicherung der SLNB handele, da bei fast 50 % der Patientinnen mit axillären Metastasen ein Zweiteingriff verhindert werden könne [63].

Lambah et al. führten eine vergleichende Studie zwischen der Toluidinblau(TB)- und einer Schnell-IHC-Färbung von Abklatschpräparaten durch. Dabei untersuchten sie Serienschnitte von 212 axillären Lymphknoten von 47 Patientinnen. Sie ka-

men, im Gegensatz zu den übrigen Studien, in denen zytologische IHC-Methoden untersucht wurden, zu dem Ergebnis, dass die TB-Färbung eine weitaus höhere Gesamtgenauigkeit aufweise. Weiterhin verglichen sie die Untersuchung durch einen Histopathologen mit der durch einen nicht-Pathologen. Es zeigte sich ein signifikanter Qualitätsunterschied zugunsten des Pathologen. Es wurde somit gefolgert, dass seine Arbeit nicht von unausgebildeten Kräften übernommen werden könne. Erstaunlicherweise erzielte der nicht-Pathologe bessere Ergebnisse mit der IHC (Sensitivität: 54,5 %) als mit der TB-Färbung (Sensitivität: 45 %) und auch als der Pathologe mit der IHC (Sensitivität: 36,4 %), nicht aber als der Pathologe mit der TB-Färbung (Sensitivität: 82 %) [51].

## Kapitel 3

### Fragestellungen

1. Stellt die SLN-Abklatschzytologie eine zuverlässige Methode zur Detektion von Lymphknotenmetastasen beim Mammakarzinom dar?

Die Ergebnisse dieser Methode werden mit denen des Schnellschnitts, der endgültigen Histologie und der Immunhistochemie verglichen.

2. Wie stark untersucherabhängig ist diese Methode?

Vergleich der Ergebnisse von vier Untersuchern mit unterschiedlichen Vorkenntnissen und Ausbildungsstand.

3. Ist die Färbetechnik ausschlaggebend für die Diagnosestellung?

Vergleich zwischen Papanicolaou und Diff Quick Färbung.

4. Welche Fehlerquellen gibt es und welchen Einfluss haben sie?





## **Kapitel 4**

### **Patientinnen, Material und Methoden**

#### **4.1 Patientenkollektiv**

Im Zeitraum von November 2000 bis November 2001 wurden an der Klinik für Gynäkologie, Gynäkologische Endokrinologie und Onkologie der Philipps Universität Marburg 66 Frauen mit einem primären Mammakarzinom im Rahmen der KISS-Studie behandelt. Mit Hilfe der SLNB wurden ihnen Lymphknoten entnommen und von diesen intraoperativ zytologische Abklatschpräparate angefertigt. Mit der Auswertung dieser Präparate im Vergleich zum ebenfalls durchgeführten Schnellschnitt beschäftigt sich die vorliegende Arbeit.

##### **4.1.1 Einschlusskriterien der KISS-Studie**

Es wurden nur solche Frauen in die Studie aufgenommen,

- die an einem Mammakarzinom im Tumorstadium T0–2 erkrankt waren,
- die keinen Rezidivtumor hatten, also primär an der Brust operiert wurden,
- bei denen es klinisch bzw. sonographisch keinen Anhalt für Lymphknoten-Metastasen gab,
- die nicht an der Axilla voroperiert waren und keine Bestrahlung der Axilla erhalten hatten,
- bei denen keine anderen Malignome oder periphere Metastasen nachgewiesen werden konnten,
- die keine bekannte Allergie gegen den verwendeten Radionuklidtracer hatten,
- die nach Aufklärung eine Einwilligungserklärung unterzeichnet hatten,
- die nicht schwanger waren oder stillten.

**Tabelle 4.1:** Patientenkollektiv der vorliegenden Studie. Bei einer Patientin\* war nach neo-adjuvanter Therapie intraoperativ kein Tumorrest mehr nachweisbar.

Anzahl der Patientinnen	66
Alter	32–84 Jahre, Mittelwert 55 Jahre
Tumorgrößen	0*–47 mm, Mittelwert 17 mm
Erkrankungsstadien	pT0*–2, davon 64 % pT0*–1, 36 % pT2 cN0, M0
Tumortypen	~ 80 % duktal invasiv ~ 13 % lobulär übrige medullär, tubulär, apokrin
Differenzierungsgrad	G1–3, davon ~ 80 % G2
BET	bei ~ 80 % der Patientinnen
Primäre Chemotherapie	bei 3 Patientinnen

## 4.1.2 Alter und TNM-Stadien der Patientinnen

Das Durchschnittsalter der 66 Patientinnen betrug zum Zeitpunkt des Ersteingriffs rund 55 Jahre, der Median lag bei 53 Jahren, wobei die jüngste Patientin 32, die älteste 84 Jahre alt war.

Nach den sonographischen, mammographischen und klinischen Befunden befanden sich sämtliche Tumoren in frühen Stadien (cT1–2). Palpatorisch und sonographisch bestand bei keiner Patientin ein Anhalt für axilläre Lymphknotenmetastasen (cN0). Fernmetastasen lagen laut den präoperativen Staginguntersuchungen ebenfalls nicht vor (M0).

## 4.1.3 Histologische Merkmale der Karzinome

Die Tumoren befanden sich histologisch zu 64 % im Stadium pT1 und zu 36 % im Stadium pT2. Die durchschnittliche Tumorgröße lag bei 17 mm, die Streubreite zwischen 0 mm und 47 mm. Bei zwei Patientinnen wurden intraoperativ nach vorausgegangener Chemotherapie jeweils nur noch 2 mm große Tumorreste, bei einer weiteren keine verbliebenen Tumoranteile gefunden.

In 80 % handelte es sich bei den Primärtumoren um einen duktal invasiven Typ des Mammakarzinoms, in 13 % um einen lobulären Typ und in 7 % um einen medullären, tubulären oder apokrinen Typ. Der Differenzierungsgrad der Mammakarzinome reichte von G1 bis G3. Am häufigsten (> 80 %) zeigte sich ein mäßiger Differenzierungsgrad (G2).

### 4.1.4 BET und weitere Therapiemaßnahmen

Bei 53 (80 %) Patientinnen konnte brusterhaltend operiert werden, bei 13 (20 %) musste eine Mastektomie durchgeführt werden. Drei Patientinnen erhielten eine primäre Chemotherapie, von denen eine histologisch eine Komplettremission zeigte.

## 4.2 Detektion und Entnahme der SLN

### 4.2.1 Präoperative Detektion der SLN

Um schon präoperativ eine Vorstellung von der SLN-Lage zu bekommen, wird am Vortag der Operation mit metastabilem Technetium ( $^{99m}\text{Tc}$ ) markiertes Humanalbumin injiziert. Hierzu werden 100 MBq des Tracers peritumoral und subdermal eingespritzt. Zwei bis vier Stunden später werden szintigraphische Aufnahmen in zwei Ebenen angefertigt. Die SLN stellen sich je nach Tumorsitz axillär, infraklavikulär und/oder parasternal dar. Fakultativ ist eine entsprechende Markierung auf der Haut zur leichteren intraoperativen Lokalisation der SLN.

### 4.2.2 Intraoperative Detektion und Entnahme der SLN

Ist am Vortag noch keine Injektion erfolgt, werden am Operationstag 50 MBq  $^{99m}\text{Tc}$  injiziert, um das intraoperative Aufsuchen des / der SLN mittels einer Gamma-Handsonde zu ermöglichen. Zwischen 10 und 20 Minuten vor Operationsbeginn wird 2,5 %-ige Patentblau-Lösung peritumoral und subdermal injiziert.

Zunächst lokalisiert man dann durch transkutane Messung der Radioaktivität in der Axilla den *hot spot* der Aktivitätsanreicherung. Hier wird ein 2–3 cm langer Hautschnitt gesetzt. Möglichst gewebeschonend erfolgt nun die SLNB, wobei selektiv alle blaufärbten und alle radioaktiv speichernden Lymphknoten entfernt werden. Die entnommenen SLN werden gesondert aufgearbeitet (s. Abschnitt 4.3).

Unter Studienbedingungen wurde nach Entnahme der SLN die SAD, getrennt nach Level I und II, angeschlossen.

Anschließend erfolgt in jedem Fall die Operation des Primärtumors, durch BET oder MRM, wie in Abschnitt 2.4 beschrieben.

### **4.3 Intraoperative Aufarbeitung der SLN**

#### **4.3.1 Herstellung der zytologischen Präparate**

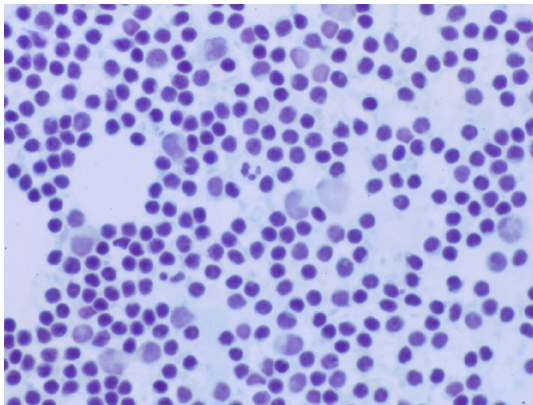
Sofort nach Entnahme der radioaktiv speichernden und der blau gefärbten SLN und Messung der radioaktiven Anreicherung wird jeder SLN mit einem Skalpell in der Mitte aufgeschnitten, aufgeklappt und, in Abhängigkeit von der Größe, jeweils 1–3 Mal auf zwei Objektträger aufgetupft, wobei sich die charakteristische Schmetterlingsfigur ergibt. Ein Objektträger wird nun für die PAP-Färbung in Fixierlösung gegeben, den zweiten lässt man für die DQ-Färbung lufttrocknen.

#### **Anfärbung der Präparate nach Papanicolaou**

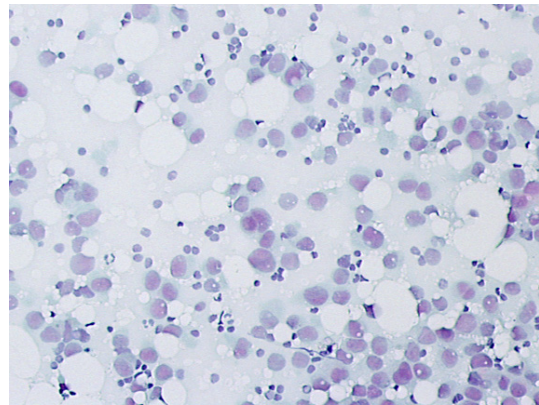
Bei der PAP-Färbung handelt es sich um eine Standardfärbung in der zytologisch-gynäkologischen Diagnostik. Sie zeichnet sich durch feine Kernzeichnung, hohe Transparenz der Plasmafärbung und gute Differenzierung der Einzelzelle auch bei Überlagerungen aus (s. Abbildung 4.1). Es gibt verschiedene Modifikationen der PAP-Färbung. Die einzelnen Schritte des in dieser Studie verwendeten Färbeprotokolls finden sich im Anhang C.1.

Zeitminimum für die Fixierung in einem Ethanol-Ether-Gemisch, mit der sofort nach Abnahme des Präparats begonnen werden muss, sind 20 Minuten, wobei eine längere Einwirkzeit keine negativen Folgen hat. Verspätete oder unvollständige Fixierung kann hingegen zu Autolyse und fäulnisbedingter Zersetzung der Zellen führen.

Die sich anschließende Färbereihe dauert ungefähr 15 Minuten. Prinzip hierbei ist, dass drei Farbstoffe kombiniert werden. Hämatoxylin färbt die Zellkerne tiefblau. Das Zytoplasma wird durch Orange G rot-orange und EA50/Polychrom blau-grün angefärbt. Leukozyten erhalten z.B. ein blassrosa gefärbtes Zytoplasma, Erythrozyten werden zartrosa bis rot angefärbt.



(i) DQ-Färbung



(ii) PAP-Färbung

**Abbildung 4.1:** Morphologie von Normalzellen mit zwei verschiedenen Färbungen.

Da die einzelnen Farbstoffe unterschiedlich hydrophile Eigenschaften haben, werden jeweils auf- oder absteigende Ethanolreihen vorangestellt. Differenzierung bzw. Farbentziehung nach Überfärbung mit Hämatoxylin wird durch Salzsäure erzielt, Ammoniak dient der Neutralisierung der Säure. Xylol bewirkt am Ende der Färbereihe eine weitere Dehydrierung und Zellbildklärung, stellt also die Vorbereitung für das Eindecken dar.

Insgesamt lassen sich die Präparate innerhalb von 35–40 Minuten anfertigen. Die Beurteilung dauert pro Präparat nochmals 5–10 Minuten, so dass in der Regel die Ergebnisse vor Abschluss der jeweiligen Operation vorliegen. Eine Durchführung der Färbereihe im Operationssaal ist nicht praktikabel, da ein Arbeitsplatz mit Abzugshaube benötigt wird.

#### **Anfärbung der Präparate mit Diff Quick**

Die DQ-Färbung (s. Abbildung 4.1) ist eine schnelle, einfache und kostengünstige Methode. Sie wurde bisher hauptsächlich zur Anfärbung von Blutausstrichen genutzt. Fixierung und Färbung können in rund 15 Sekunden durchgeführt werden.

Den variablen Zeitfaktor stellt die Lufttrocknung des Präparates dar, da sie von mehreren Faktoren, wie Dicke des Abklatsches, Luftfeuchtigkeit und Raumtemperatur abhängt. Unter optimalen Bedingungen, z.B. im Trockenschrank, nimmt sie aber auch nur wenige Minuten in Anspruch. Das Trocknen muss jeweils vor der Färbereihe und danach, also vor dem Eindecken, stattfinden.

Die Reagenzien setzen sich zusammen aus einer Fixierlösung (Fast Green in Methanol) und zwei Färbungen, einer eosinophilen (rot, Eosin G) und einer basophilen (blau, Thiazin-Farbstoff).

In jeden der drei Behälter muss der Objektträger mit dem getrockneten Abklatsch mehrere Male kurz eingetaucht werden. Zwischendurch lässt man ihn kurz abtropfen und spült ihn anschließend mit destilliertem Wasser ab. Nach erneuter Trocknung kann die Eindeckung durchgeführt werden.

### 4.3.2 Herstellung der Schnellschnitt-Präparate

Die entnommenen SLN werden unfixiert zunächst von einem Pathologen makroskopisch begutachtet. Dieser wählt ein Areal aus, welches dem Schnellschnitt zugeführt wird. Die Gewebeprobe wird auf ein Korkplättchen, dieses auf einen Spezialobjektträger gelegt. Spezielles Einbettungsmedium dient der besseren Haftung der Materialien aneinander.

Zum Schockgefrieren wird das Frischgewebe in flüssigen Stickstoff eingetaucht, wodurch die Gewebsautolyse verhindert wird. Das anschließende langsame Einfrieren wird im Kryoautomaten durchgeführt. Objektträger und Mikrotommesser können auf die, abhängig vom bearbeiteten Material, gewünschte Temperatur heruntergekühlt werden. Für Lymphknoten, bei denen es sich um fettreiches Gewebe handelt, wählt man eine Einfrierungstemperatur von ca.  $-25^{\circ}\text{C}$ . Auch die Schichtdicke muss individuell gewählt werden. Sie sollte maximal  $10\text{ }\mu\text{m}$  betragen, optimal wären  $6\text{ }\mu\text{m}$ , bei Lymphknoten sind es aufgrund der Gewebeeigenschaften meist  $8\text{--}9\text{ }\mu\text{m}$ . Die entstandenen Scheiben werden mit einem Glasobjektträger aufgenommen und mit HE angefärbt. Zur Durchführung der Färbung s. Anhang C.3. Anschließend untersucht ein Pathologe die Präparate und teilt seinen Befund dem Operationsteam mit.

Das operativ entnommene Lymphknotengewebe, also die Restanteile der SLN nach der Schnellschnittuntersuchung und getrennt davon alle Nicht-SLN, wird zur Fixierung in 4 %-iges Formalin gegeben und in ein Institut für Pathologie gebracht. Dort wird die endgültige Histologie in Form von Serienschnittaufarbeitung sowie Immunhistochemie durchgeführt. Letztere stellt den Goldstandard der Lymphknotenbeurteilung dar.

## 4.4 Zytologische Beurteilung

### 4.4.1 Studienaufbau

Die zytologischen Abklatschpräparate wurden ausschließlich von SLN hergestellt. Durch die genaue Beschriftung der Objektträger mit Patienten- und SLN-Nummer ließ sich jedes Präparat exakt zuordnen und mit der entsprechenden Histopathologie vergleichen.

Die Berechnungen konnten hierdurch sowohl auf Patienten- als auch auf Knotenbasis durchgeführt werden (s. Abschnitt 4.5).

Die Einordnung der Befunde erfolgte, wie vorher festgelegt, nach Einschätzung des Untersuchers in eine der vier Kategorien: „benigne“, „maligne“, „zweifelhaft“ oder „nicht auswertbar“:

- „benigne“, wenn der Untersucher in dem Präparat keine Metastasen oder verdächtigen Zellen auffinden konnte.
- „maligne“, wenn der Untersucher in dem Präparat für ihn eindeutig Metastasen – nach den in Abschnitt 4.4.3 genannten Malignitätskriterien – nachweisen konnte.
- „zweifelhaft“, wenn der Untersucher verdächtige Zellen nicht eindeutig als Metastasen identifizieren konnte.
- „nicht auswertbar“, wenn der Untersucher seiner Einschätzung nach aufgrund der mangelnden Qualität des Präparates oder einer zu geringen Menge vorhandener Zellen keine Aussagen zum Status des entsprechenden SLN treffen konnte.

Pro SLN wurden somit acht Befunde erhoben: je zwei Präparate, mit PAP und DQ angefärbt, von jedem der vier Untersucher beurteilt. Nach Eingabe dieser Befunde und der Patientendaten in Datenbanken wurden für jeden Untersucher und beide Färbungen die Ergebnisse anhand statistischer Masszahlen berechnet (vgl. Abschnitt 4.5.3).

Die zweifelhaften Befunde wurden hierbei in getrennten Berechnungen einmal den malignen und einmal den benignen zugeordnet (vgl. Abschnitt 4.5.1). Nicht auswertbare Befunde wurden immer als Fehler gewertet.

### 4.4.2 Untersucher

Nach Auffassung mehrerer Autoren handelt es sich bei der Abklatschzytologie, insbesondere bei Präparaten von Lymphknoten, um eine stark untersucherabhängige Methode. In der internationalen Literatur fanden sich bisher allerdings keine Studien, die diese These überprüfen.

Deshalb wurden für die vorliegende Arbeit vier Untersucher mit unterschiedlichen Vorkenntnissen und unterschiedlichem Ausbildungsstand ausgewählt. Im Einzelnen handelte es sich um Untersucher 1, eine erfahrene Pathologin, Untersucher 2 und 3, zwei Medizinisch-technische Assistentinnen (MTA) mit langjähriger Erfahrung in der gynäkologischen Zytologie, sowie Untersucher 4, eine Medizinstudentin und Autorin dieser Arbeit ohne Vorkenntnisse auf dem Gebiet der Zytologie.

Anhand im Folgenden genannter, allgemeiner und spezieller zytologischer Malignitätskriterien wurden die zytologischen Präparate von den vier Untersuchern unabhängig voneinander und ohne Kenntnis intraoperativer oder histopathologischer Befunde untersucht (vgl. Abschnitt 4.4.3 und 4.4.1).

Die so erhobenen Befunde wurden mit denen der endgültigen Histologie verglichen und anhand statistischer Masszahlen ausgewertet.

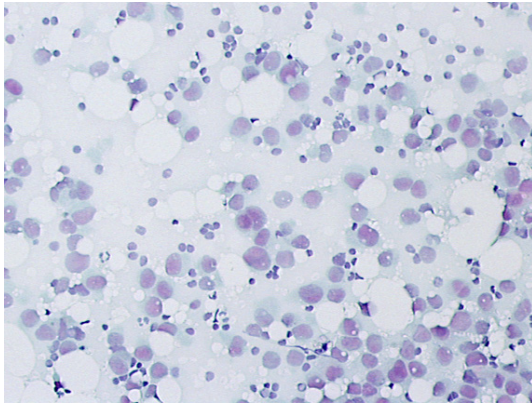
### 4.4.3 Allgemeine und spezielle Malignitätskriterien

Im Allgemeinen gibt es verschiedene morphologische Hinweise auf eine Entartung von Zellen, die eine unterschiedlich ausgeprägte Gestaltsänderung im Vergleich zu ihren Ausgangszellen durchgemacht haben, abhängig vom Entartungsgrad, bzw. der Anzahl von Mutationen.

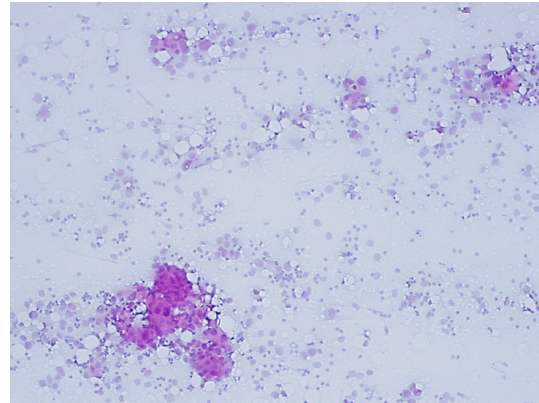
#### **Spezielle Malignitätskriterien in der Zytologie von Lymphknoten**

Die in Tabelle 4.2 angegebenen Malignitätskriterien lassen sich nur dann auf die Lymphknotenzytologie übertragen, wenn einige Besonderheiten beachtet werden. So wären z.B. normale lymphatische Zellen in Bezug auf ihre Kern-Plasma-Relation und Mitoserate als hochmaligne anzusehen. Ferner ist der Lymphknoten von einer Vielzahl reaktiver Veränderungen als Antwort auf unspezifische Entzündungsprozesse im Abflussgebiet und die Tumorerkrankung selbst betroffen, wie z.B. die Sinushistiozytose oder regressive Umwandlungen.





(i) Zellbild beim Normalbefund



(ii) Zellbild bei Metastasierung

**Abbildung 4.2:** Zerstörte „Lymphknotenarchitektur“ durch Metastaseninvasion (PAP-Färbung). Auffällig ist die Hyperchromasie des Zytoplasmas der Metastasen im Vergleich zum Färbeverhalten normaler Lymphozyten.

Zunächst muss man jede epitheliale Zelle, die sich im Lymphknoten befindet, als verdächtig bewerten, da diese dort normalerweise nicht vorkommen. Besonders bei Anhäufung von epithelialen Zellen und bekanntem Mammakarzinom muss metastatischer Befall immer in Betracht gezogen werden [49, 71].

Was sind nun die Charakteristika dieser Zellen im Gegensatz zu Lymphozyten? Von mehreren Autoren wird eine Neigung zur Kohäsion beschrieben, das sogenannte *clustering*-Phänomen, wodurch es zur Bildung synzytialer Gruppen, bzw. dreidimensionaler Haufen kommt [49, 71, 79]. Die Einzelzellen überlappen sich in diesen teilweise, teilweise verschwimmen die Zellgrenzen [3]. Die umgebenden Lymphozyten hingegen liegen eher einzeln verstreut [55]. Manchmal findet sich auch ein drüsenartiges Muster [71].

Weitere Kriterien sind die Größe und Form der Einzelzelle, die das allgemeine Zellbild mitbestimmen. Auch gesunde Epithelzellen sind größer als Lymphozyten, mehr noch maligne entartete Epithelzellen. Zusätzlich variiert die Größe der Zellen untereinander stark. Ebenso variiert die Zellform, die zum Teil, abhängig auch vom Differenzierungsgrad des Primärtumors, bizarre Formen annehmen kann.

Gleiches gilt für die Zellkerne. Wie schon erwähnt, ist das Merkmal hier besonders die Polymorphie, aber auch die verschobene Kern-Plasma-Relation, bedenkt man, dass diese eben nicht Alleingültigkeitsanspruch haben darf, da sie bei gesunden

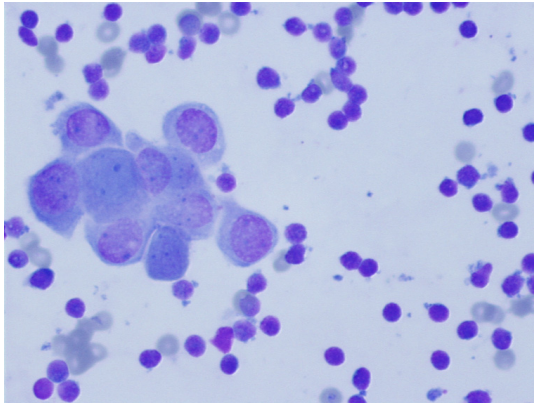
**Tabelle 4.2:** Allgemeine mikroskopische Malignitätskriterien auf zellulärer Ebene.

Zellgröße	erhöht
Zellform	verändert, bizarr, in Bezug auf die Einzelzelle völlig unterschiedlich, vergleicht man die Einzelzellen miteinander (Zellpolymorphie)
Kerngröße	absolute Vergrößerung des Zellkerns relative Vergrößerung im Vergleich mit dem Zytoplasma (Verschiebung der Kern-Plasma-Relation)
Kernform	unterschiedlich große, bizarr und unterschiedlich geformte Kerne (Kernpolymorphie und -dysmorphie)
Nucleolus	prominent, erhöhte Anzahl von Nucleoli pro Zellkern
Mitoserate	erhöhte Anzahl von Mitosen
Lagerung der Zellen	Adhäsion der Zellen untereinander: Aggregation, Clusterbildung verschwommene Zellgrenzen

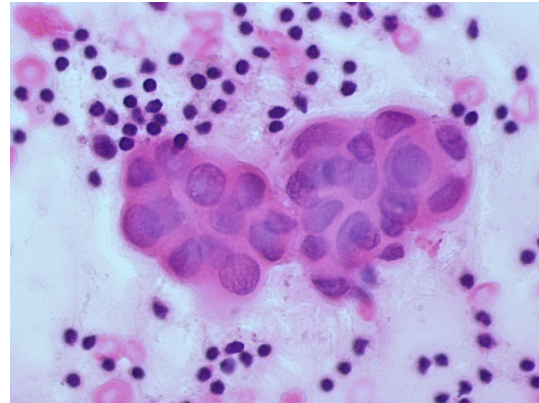
Lymphozyten normal ist. Ein Verlust der Zellpolarität wird ebenfalls beobachtet [3]. Diese Veränderungen führen zu einem uneinheitlichen Gesamteindruck bei Betrachtung mit der kleinsten Vergrößerung des Lichtmikroskops, wohingegen das Bild bei normalen Lymphknoten-Präparaten relativ uniform ist. Das unruhige Zellbild entspricht der Zerstörung der Lymphknotenarchitektur durch Metastaseninvasion in der Histologie (vgl. Abbildung 4.2).

Mitosen können vorkommen, finden sich aber auch bei lymphatischen Zellen, besonders in aktivierten Lymphozyten (s. Abbildung 2.1). Abhängig von der Färbung kommen die Nucleoli in den zytologischen Präparaten mehr oder weniger gut zur Darstellung. Bei malignen Zellen sind sie prominent, und es finden sich oft mehrere pro Kern [3] (s. Abbildung 4.3). Ferner können vermehrt Zelltrümmer in den Präparaten vorkommen.

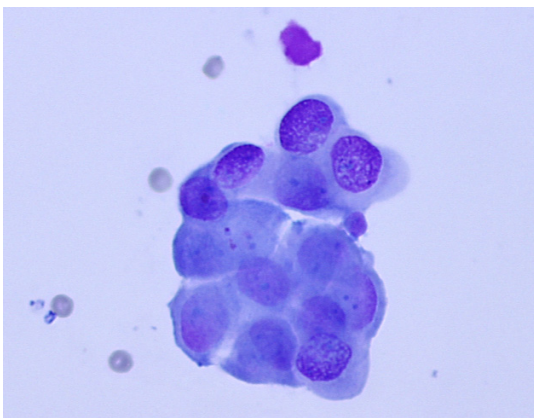
Die an dieser Studie beteiligten Untersucher äußerten übereinstimmend den Eindruck, dass die entarteten Zellen eine Hyperchromasie des Zytoplasmas besonders in der PAP-Färbung aufweisen. Ebenso subjektiv, aber übereinstimmend war der Eindruck verschwommener Zellgrenzen und „Unschärfe“ der Einzelzellen in den



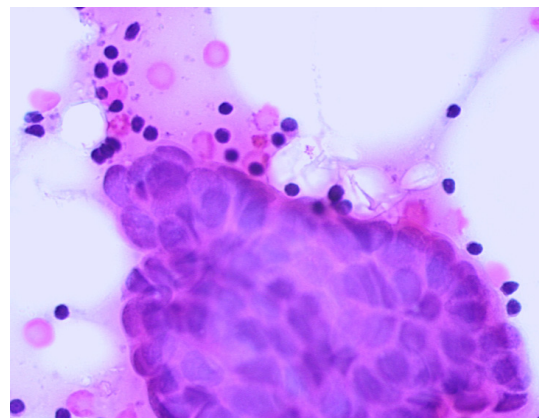
(i) DQ-Färbung



(ii) PAP-Färbung



(iii) DQ-Färbung



(iv) PAP-Färbung

**Abbildung 4.3:** Morphologie von Metastasen mit zwei verschiedenen Färbungen. Man beachte die deutlich sichtbaren Nucleoli der Metastasenzellen bei Verwendung der DQ-Färbung. Bild (iv) zeigt besonders eindrucksvoll das dreidimensionale Erscheinungsbild einer Metastase.

Metastasenanhäufungen. Dies würde zur Theorie der Synzytienbildung und dreidimensionalen Anordnung passen (vgl. Abbildung 4.3).

Einigkeit herrschte unter den Untersuchern auch in der Ansicht, dass die Befunderhebung bei starkem metastatischen Befall keinerlei Schwierigkeiten bereitet und die richtige Diagnose auch ohne besondere Vorkenntnisse gestellt werden kann. Gerade bei vereinzelt liegenden atypischen Zellen und anaplastischen oder niedrigdifferenzierten Karzinomen kann es aber zu Unsicherheiten bei der Diagnosestellung kommen, wie auch von Ku betont wird [49, 50]. In jedem Fall muss bedacht wer-

den, dass keiner der o. g. Malignitätsfaktoren für sich allein genommen ausreicht, sondern nur das Vorhandensein mehrerer für eine Atypie der Zellen spricht.

### 4.4.4 Fehlerquellen

Beim Herstellungsprozess der Abklatschpräparate können an vielen Stellen Fehler auftreten, die die anschließende Befundung erschweren oder sogar unmöglich machen. Sie können entweder zu Fehlinterpretationen oder zur Einordnung in die Kategorie „nicht auswertbar“ führen.

Darum müssen die im Folgenden aufgezeigten Fehler unbedingt vermieden werden, um eine hohe Qualität der intraoperativen Lymphknotenzytologie sicherzustellen. Im einzelnen sind Fehler möglich bei der Abklatschherstellung, -fixierung und Färbung.

**Abklatschherstellung** Beim Abklatsch ist es wichtig, dass der frisch aufgeschnittene Lymphknoten auf den Objektträger aufgedrückt, nicht darauf abgestrichen wird. Jede Gleitbewegung ist zu vermeiden. Sonst entstehen multiple Artefakte durch Zerstörung von Zellverbänden und Schädigung der Einzelzellen.

**Fixierung** Die zwei Objektträger mit den Abklatschpräparaten eines SLN müssen getrennt weiterverarbeitet werden. Werden beide in das Ether-Ethanol-Gemisch gegeben, kann die DQ-Färbung nicht durchgeführt werden. Lässt man beide lufttrocknen, so kann man nach einiger Zeit, trotz nachgeholter Fixierung, die PAP-Färbung nicht mehr anwenden.

Unvollständige Fixierung bei der PAP-Färbung führt durch autolyse- und fäulnisbedingte Zersetzung der Zellen zu schlechten Ergebnissen, wohingegen zu lange Einwirkzeiten kaum negative Auswirkungen haben. Werden nach der DQ-Färbung bei unvollständiger Trocknung die Präparate nass eingedeckt entstehen ebenfalls verschiedene Artefakte.

**Färbung** Bei der Färbung haben u.a. das Alter und die jeweilige Einwirkzeit bzw. Konzentration der verwendeten Farben einen Einfluss auf die Qualität und Beurteilbarkeit der Präparate. Zu alte Farben führen zu einem blassen Zellbild, wodurch

Befunde leichter übersehen werden können. Unterschiedliches Alter oder unausgewogene Komposition der Einzelkomponenten durch unterschiedliche Einwirkzeiten und Konzentrationen können zum Überwiegen einer Farbe führen. Es resultiert z.B. bei PAP eine zu dunkle Anfärbung der Kerne bei zu langem Einwirken von Hämatoxylin, ein „Orangestich“ durch Überwiegen von Orange G oder eine zu grüne Zytoplasmafärbung durch zu intensive Anfärbung mit dem polychromatischen Farbstoff.

Da der Untersucher seinen Befund auch am Färbeverhalten der Einzelzellen orientiert, kann es zu Fehlinterpretationen kommen. Eine exakte Durchführung der Färbung ist somit essentiell für die Reproduzierbarkeit und Qualität der Ergebnisse.

## 4.5 Ergebnisberechnung

### 4.5.1 Umcodierung

In der Praxis gibt es für die intraoperative Befundung der SLN nur drei Möglichkeiten: der SLN ist maligne, benigne oder das Präparat ist nicht auswertbar. Unter Studienbedingungen bot es sich allerdings an, noch zwei weitere Kategorien einzuführen, nämlich „zweifelhaft“ für die Zytologie und „Mikrometastase“ für die endgültige Histologie bzw. Immunhistochemie (vgl. 4.4.1).

In der Realität müsste auch für zweifelhafte Befunde die Entscheidung getroffen werden, ob der Lymphknoten befallen ist oder nicht. Für die Auswertung werden deshalb im Nachhinein alle zweifelhaften Befunde rechnerisch entweder den benignen oder den malignen zugeordnet. Für diesen im folgenden *Umcodierung* genannten Vorgang gibt es also zwei Möglichkeiten der Zuordnung zweifelhafter Befunde:

- „zweifelhaft“ → „maligne“, d.h. alle zweifelhaften werden behandelt wie befallene SLN, die SAD würde durchgeführt.
- „zweifelhaft“ → „benigne“, d.h. alle zweifelhaften werden behandelt wie nicht befallene SLN, die SAD würde nicht durchgeführt.

Zur Untersuchung des Einflusses der Umcodierung auf die Ergebnisse werden die Vorteile der Studienkategorie „zweifelhaft“ genutzt und das Ergebnis der beiden Möglichkeiten in der Diskussion verglichen (vgl. Abschnitt 6.3.2).

Für die Mikrometastasen wurden unter Studienbedingungen aufgrund ihrer Sonderstellung getrennte Berechnungen durchgeführt, da ihre prognostische Bedeutung bisher umstritten ist und kontrovers diskutiert wird. Auch hier gibt es für das spätere Vorgehen in der Routine zwei mögliche Umcodierungen:

- Mikrometastasen → „maligne“, d.h. mikrometastatisch befallene SLN werden behandelt, als hätte eine Metastasierung stattgefunden.
- Mikrometastasen → „benigne“, d.h. mikrometastatisch befallene SLN werden behandelt, als hätte keine Metastasierung stattgefunden.

### 4.5.2 Ergebniskategorien

Die durch die vier Untersucher erhobenen und ggf. umcodierten Befunde wurden mit den Ergebnissen der Histologie verglichen. Für jeden zytologischen, als auswertbar und als benigne oder maligne beurteilten Befund konnte somit entschieden werden, ob er falsch oder richtig positiv, falsch oder richtig negativ war (s. Tabelle 4.3). Falsch negativ (FN) bedeutet hierbei, dass eine Metastase von dem jeweiligen Untersucher nicht erkannt wurde, obwohl der SLN befallen war. Falsch positiv (FP) hingegen, dass ein SLN als metastatisch befallen angesehen wurde, obwohl er metastasenfrei war. Bei richtig negativen (RN) oder richtig positiven (RP) Befunden stimmen Zytologie und Histologie überein.

Es gibt verschiedene Veränderungen, die bei unbefallenen Lymphknoten einen metastatischen Befall vortäuschen können. Diese sogenannten „Pseudometastasen“ führen dann zu falsch positiven Befunden.

Dies ist z.B. bei Vorliegen einer Sinushistiozytose, wie in Abbildung 4.4 dargestellt, möglich. Diese Aggregate von reaktiven Gewebsmakrophagen oder Histiozyten in den Sinusoiden finden sich bei benignen inflammatorischen Prozessen. Eine solche Entzündungsreaktion in axillären Lymphknoten sei beim Mammakarzinom, auch ohne Vorliegen von Metastasen, häufig. Es handele sich dabei um eine Abwehrreaktion, also die Antwort des Immunsystems auf die malignen Zellen des Primärtumors [11,49].

Auch Follikelfragmente, Keimzentrumslymphozyten und aktivierte Endothelzellen könnten die Diagnosestellung erschweren [13,49].

Tabelle 4.3: Ergebniskategorien bei Vergleich von Zytologie und Histologie

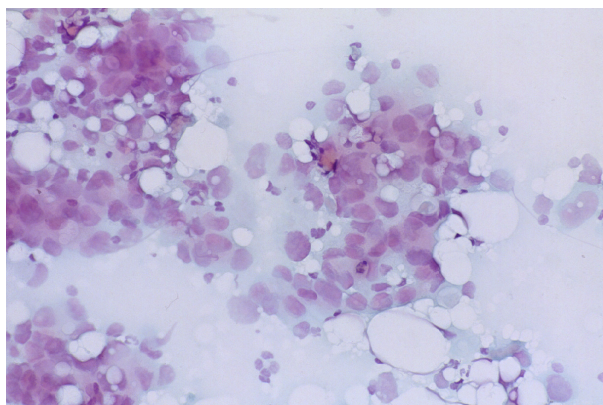
<i>Ergebnis der Abklatschzytologie</i>	Tatsächlicher Befund (Histologie)	
	Hist. maligne	Hist. benigne
Zyt. maligne	RP	FP
Zyt. benigne	FN	RN
Zyt. nicht auswertbar	NA <sub>maligne</sub>	NA <sub>benigne</sub>

Ein weiterer Grund für Unsicherheiten kann laut Cserni in [13] das Vorkommen von Epitheloidzellen sein. In dieser Publikation wird von einer Patientin berichtet, bei der sich ein deutlich abgegrenztes Granulom fand, dem diese Zellen entstammten. Bei den anderen Patientinnen war überdurchschnittlich häufig vorher eine Lymphszintigraphie mit kolloidalem Albumin durchgeführt worden. Bei SLN-Patientinnen wären diese Veränderungen also vermehrt zu erwarten.

Falsch negative Befunde sind weitaus häufiger als falsch positive Befunde. Zum einen kann die Ursache ein „Vorbeischneiden“ an den Metastasenzellen sein, falls diese auf der gewählten Schnittfläche und somit auf dem erstellten Abklatschpräparat nicht erscheinen. Zum anderen können vorhandene Tumorzellen übersehen oder als benigne angesehen werden, besonders, wenn sie nur vereinzelt vorkommen oder es sich um Mikrometastasen handelt. An den Objektträgerrand versprengte Metastasen können ebenfalls übersehen werden, falls nicht der gesamte Objektträger durchgerastert wird (vgl. Abb. 6.1).

Ferner seien laut Ku Fehlinterpretationen auch bei niedrig- bis entdifferenziertem duktalem oder lobulärem Karzinom möglich, da anaplastische Metastasen eines der Hauptmalignitätskriterien in der Lymphknoten-Zytologie, nämlich die Morphologie von Epithelzellen, verloren haben [49, 50].

Nicht auswertbar (NA) ist ein Präparat dann, wenn ein Untersucher aufgrund z.B. schlechter Qualität des Abstrichs oder der Färbung oder zu geringer Menge an Zellmaterial seiner Meinung nach nicht mit ausreichender Sicherheit einen Befund erheben kann. Nach Vorliegen der endgültigen Histologie erfolgte die Einteilung in NA<sub>benigne</sub>, wenn das Präparat eines metastasenfreen SLN nicht ausgewertet werden konnte und NA<sub>maligne</sub>, wenn es sich um einen befallenen SLN handelte, von dem



**Abbildung 4.4:** Pseudometastase, d.h. Imitation einer Metastasierung durch Sinushistiozytose (PAP-Färbung).

der nicht auswertbare Abklatsch hergestellt worden war (s. Tabelle 4.3). Aus diesen Zahlen wurden dann für jeden der vier Untersucher getrennt nach den beiden Färbungen und den beiden Umcodierungen die folgenden statistischen Kennwerte berechnet. In Tabelle 4.4 findet sich eine Formelübersicht.

### 4.5.3 Statistische Kennwerte

#### Spezifität

Die Spezifität gibt Aufschluss über die Fähigkeit des Untersuchers oder der Methode, einen negativen Befund auch als solchen zu erkennen, in diesem Fall also bei nicht befallenen SLN sicher metastatischen Befall auszuschließen. Sie wird berechnet, indem man die Anzahl richtig negativer Befunde durch die Anzahl aller tatsächlich negativen Befunde, einschließlich der histologisch benignen, aber zytologisch nicht auswertbaren Lymphknoten, teilt:

$$\begin{aligned} p_{\text{Spezifität}} &= P(\text{negativ erkannt} | \text{tatsächlich negativ}) \\ &= \frac{\text{RN}}{\text{RN} + \text{FP} + \text{NA}_{\text{benigne}}} \end{aligned}$$

#### Sensitivität

Die Sensitivität bildet das Gegenstück zur Spezifität. Sie ist also in diesem Fall ein Mass für die Fähigkeit, befallene SLN als solche zu erkennen. Die Sensitivität wird



berechnet, indem man die richtig positiven Befunde durch alle tatsächlich positiven Befunde teilt:

$$\begin{aligned} p_{\text{Sensitivität}} &= P(\text{positiv erkannt} | \text{tatsächlich positiv}) \\ &= \frac{\text{RP}}{\text{RP} + \text{FN} + \text{NA}_{\text{maligne}}} \end{aligned}$$

Nicht auswertbare Präparate werden hierbei eingeschlossen, sofern durch die endgültige Histologie ein metastatischer Befall des SLN nachgewiesen wurde.

### Gesamtgenauigkeit

Die Gesamtgenauigkeit  $p_{\text{Gesamtgenauigkeit}}$  fasst die Kennwerte Spezifität und Sensitivität zusammen und bezeichnet somit die Wahrscheinlichkeit einen positiven oder negativen Befund richtig als solchen zu erkennen. Sie gibt den Anteil richtig erkannter Befunde an allen Befunden an.

$$\begin{aligned} p_{\text{Gesamtgenauigkeit}} &= P(\text{richtig erkannt}) \\ &= \frac{\text{RP} + \text{RN}}{\text{RP} + \text{RN} + \text{FP} + \text{FN} + \text{NA}_{\text{benigne}} + \text{NA}_{\text{maligne}}} \end{aligned}$$

### Positiver und negativer prädiktiver Wert

Der positive prädiktive Wert  $p_{\text{PPW}}$  beschreibt den Anteil der richtig positiven an allen positiven Befunden und gibt somit Aufschluss über die Wahrscheinlichkeit, dass bei einem positiven Befundungsergebnis auch tatsächlich eine Metastasierung vorliegt.

$$\begin{aligned} p_{\text{PPW}} &= P(\text{tatsächlich positiv} | \text{positiv erkannt}) \\ &= \frac{\text{RP}}{\text{RP} + \text{FP}} \end{aligned}$$

Der negative prädiktive Wert  $p_{\text{NPW}}$  gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit der untersuchte SLN bei einem zytologisch negativen Befund tatsächlich unbefallen ist. Er entspricht dem Anteil der richtig negativen Befunde an der Gesamtheit aller negativen Befunde:

$$\begin{aligned} p_{\text{NPW}} &= P(\text{tatsächlich negativ} | \text{negativ erkannt}) \\ &= \frac{\text{RN}}{\text{RN} + \text{FN}} \end{aligned}$$

**Tabelle 4.4:** Zusammenstellung der Formeln zur Berechnung der statistischen Kennwerte.  
Zur Bedeutung von RN, FN, RP, FP und NA s. Abschnitt 4.3.

Spezifität	$p_{\text{Spezifität}}$	$= \frac{RN}{RN+FP+NA_{\text{benigne}}}$
Sensitivität	$p_{\text{Sensitivität}}$	$= \frac{RP}{RP+FN+NA_{\text{maligne}}}$
Gesamtgenauigkeit	$p_{\text{Gesamtgenauigkeit}}$	$= \frac{RP+RN}{RP+RN+FP+FN+NA_{\text{benigne}}+NA_{\text{maligne}}}$
Positiver prädiktiver Wert	$p_{\text{PPW}}$	$= \frac{RP}{RP+FP}$
Negativer prädiktiver Wert	$p_{\text{NPW}}$	$= \frac{RN}{RN+FN}$

Die Anzahl nicht auswertbarer Fälle hat hier direkt weder auf den positiven, noch auf den negativen prädiktiven Wert Einfluß. Somit haben diese Werte nur bedingt Aussagekraft für die Ergebnisse dieser Studie, in der es die Kategorie „nicht auswertbar“ für die zytologische Befundung gab.

#### 4.5.4 Knoten- und patientenbasierte Ergebnisberechnung

Nach der Umcodierung wurden die zytologischen Ergebnisse getrennt nach Untersuchen und Färbungen ausgewertet und denen des Schnellschnittes gegenübergestellt. Hierfür gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten der Berechnung, zum einen auf Knotenbasis, zum anderen auf Patientenbasis.

Bei Berechnung auf Knotenbasis wird jeder entnommene SLN getrennt betrachtet, unabhängig davon, bei welcher Patientin er entnommen wurde und unabhängig vom Status der übrigen, bei dieser Patientin entnommenen SLN.

Bei Berechnung auf Patientenbasis gilt der Gesamtbefund als positiv, sobald einer der einer bestimmten Patientin entnommenen SLN Metastasen aufweist. Prinzipiell wird durch diese Art der Berechnung die Sensitivität gesteigert. Allerdings kann die Spezifität bei Vorliegen eines falsch positiven Befundes in einem der SLN gesenkt werden.

Erstere Vorgehensweise zeigt somit besser die Methodengenauigkeit, letztere orientiert sich mehr an der Praxis. In dieser Studie wurden beide Auswertungen vorgenommen.

## Kapitel 5

### Ergebnisse

Insgesamt wurden den 66 Patientinnen 145 SLN entnommen. Pro Patientin waren dies 1 bis, allerdings nur in einem Fall, maximal 8 SLN. Der Mittelwert lag bei 2,2 SLN, der Median bei 2 SLN pro Patientin.

Von diesen 145 SLN wurden für die vorliegende Arbeit jeweils zwei Abklatschpräparate pro SLN angefertigt. Von allen SLN wurden Präparate mit PAP, aber nur von 136 SLN konnten Präparate mit DQ angefärbt werden, da aufgrund eines Fehlers bei der Fixierung bei den übrigen keine DQ-Färbung möglich war (s. Abschnitt 4.4.4). Die Präparate, die nur mit PAP angefärbt worden waren, wurden zwar von den Untersuchern ausgewertet, zur besseren Vergleichbarkeit der beiden Methoden aber aus den Berechnungen herausgenommen.

Für einen der verbliebenen 136 SLN, die mit beiden Färbungen angefärbt wurden, lagen keine Histologie- und Schnellschnittbefunde vor.

Ein weiteres Präparat war laut endgültiger Histologie nicht auswertbar, da es sich um fälschlicherweise entnommenes, verdichtetes Fettgewebe (Pseudolymphknoten) handelte, in dem sich keine lymphatischen Zellen nachweisen ließen. Dieses wurde nachträglich aus den Berechnungen herausgenommen. Somit lagen die vollständigen und relevanten Daten für 134 SLN von 64 Patientinnen vor.

Davon enthielten 11 SLN von 8 Patientinnen nur Mikrometastasen. Nur bei 5 dieser Patientinnen fanden sich ausschließlich SLN mit Mikrometastasen, bei den übrigen 3 ließen sich in den weiteren entnommenen SLN zusätzliche Makrometastasen nachweisen. Aufgrund der Sonderstellung eines mikrometastatischen Lymphknotenbefalls wurden diese getrennt ausgewertet (s. Abschnitt 5.1).

Die statistischen Berechnungen wurden somit auf der Basis von 123 Lymphknoten von 59 Patientinnen und zusätzlich auf der Basis von 134 SLN von 64 Patientinnen, einschließlich der 11 SLN mit Mikrometastasen, durchgeführt.

Eine tabellarische Übersicht über die Ergebnisse von Zytologie und Schnellschnitt findet sich in den Tabellen 5.2 bis 5.9 für SLN ohne Mikrometastasen und in den Tabellen 5.14 bis 5.21 für SLN mit Mikrometastasen.

### 5.1 Ergebnisse der Histopathologie

In der endgültigen Histopathologie zeigten sich in 37 der insgesamt 134 zytologisch und histologisch beurteilten SLN Metastasen. 97 SLN waren tumorzellfrei. Dies entspricht einem Anteil an Lymphknotenmetastasen in allen entnommenen und ausgewerteten 134 SLN von 27,4 %.

Wie oben erwähnt fanden sich Mikrometastasen davon in 11 Lymphknoten bei 8 Patientinnen. Die Rate an Mikrometastasen betrug somit auf Knotenbasis 8,2 %.

In 26 (21,1 %) der, nach Abzug der Mikrometastasen, 123 in die Auswertung einbezogenen SLN zeigten sich im endgültigen histopathologischen Befund Makrometastasen. Pro Patientin waren 1 bis maximal 4 SLN befallen, mit einem Mittelwert von 0,7 SLN.

Auf Patientenbasis ausgewertet heisst dies: bei 41 (64,1 %) der 64 Patientinnen ließ sich mit der endgültigen Histologie in keinem der entnommenen SLN metastatischer Befall nachweisen. Bei 5 Patientinnen (7,8 %) fanden sich nur Mikrometastasen. Bei 18 Patientinnen (28,1 %) ließen sich zumindest in einem der SLN Makrometastasen nachweisen.

### 5.2 Ergebnisse des Schnellschnitts

Die Berechnungen der Ergebnisse des Schnellschnitts wurden ebenfalls sowohl auf Knoten- als auch auf Patientenbasis mit und ohne Mikrometastasen durchgeführt. Diese Ergebnisse werden im Folgenden dargestellt.

Eine Umcodierung musste hier nicht durchgeführt werden, da es für den Schnellschnitt keine Kategorie „zweifelhaft“ gab.

#### **Ergebnisse auf Knotenbasis**

Der Schnellschnitt führte bei 3 der 123 SLN nicht zur richtigen Diagnosestellung. In allen drei Fällen lagen Makrometastasen vor, die nicht erkannt wurden. Alle 97

tumorzellfreien Lymphknoten wurden auch als benigne befundet. Falsch positive Diagnosen kamen somit nicht vor (s. Tabelle 5.2 und 5.4).

Daraus ergab sich eine Spezifität und ein positiver prädiktiver Wert (PPW) von 100 %. Die Gesamtgenauigkeit betrug auf Knotenbasis 97,6 %. Die Sensitivität lag bei 88,5 %, der negative prädiktive Wert (NPW) bei 97 % für die SLN ohne Mikrometastasen (s. Tabelle 5.3 und 5.5).

Nur 2 der 11 SLN, bei denen Mikrometastasen vorlagen, wurden korrekt als maligne, die übrigen 9 Lymphknoten wurden als benigne befundet. Bei Einschluss der Mikrometastasen in die Berechnungen sank die Sensitivität somit auf 67,6 %, die Gesamtgenauigkeit auf 91 % und der NPW auf 89 % (s. Tabelle 5.14 und 5.16).

### **Ergebnisse auf Patientenbasis**

Alle SLN der 41 Patientinnen ohne SLN-Metastasen wurden mit dem Schnellschnitt richtig negativ befundet. Die Spezifität und der PPW betrugen somit 100 %.

Der positive axilläre Lymphknotenstatus wurde bei 17 von 18 Patientinnen durch den Schnellschnitt korrekt diagnostiziert, bei einer Patientin hätte eine sekundäre SAD durchgeführt werden müssen. Daraus ergab sich eine Sensitivität auf Patientenbasis von 94,4 % und ein NPW von 97,6 %. Der Schnellschnitt erzielte eine patientenbezogene Gesamtgenauigkeit von 98,3 % für SLN ohne Metastasen und mit Makrometastasen (s. Tabelle 5.7 und 5.9).

Bei Einschluss der Mikrometastasen sank die Gesamtgenauigkeit auf 89,1 %, die Sensitivität betrug nur noch 72 %, der NPW 84,8 %. Die Spezifität und der PPW lagen weiterhin bei 100 %.

## **5.3 Ergebnisse der Zytologie**

Die Ergebnisse der einzelnen Untersucher wurden nach verschiedenen Gesichtspunkten, anhand der in Abschnitt 4.5.3 beschriebenen statistischen Masszahlen, ausgewertet.

Im Folgenden sind nur ausgewählte Ergebnisse aufgeführt. Sie werden für die SLN ohne Mikrometastasen mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ für alle Untersucher auf Knotenbasis und für Untersucher 1 zusätzlich auf Patientenbasis dargestellt.

Die Ergebnisse für beide Umcodierungen und diejenigen für Untersucher 2–4 auf Patientenbasis werden in den Ergebnistabellen gegenübergestellt (s. Abschnitt 5.4).

In Abschnitt 5.5 wird näher auf die Anzahl zweifelhafter Befunde pro Untersucher, in Abschnitt 5.6 auf die Anzahl der Zytologie-Präparate, die die einzelnen Untersucher für nicht auswertbar hielten, eingegangen. In Abschnitt 5.7 finden sich die Ergebnisse für alle SLN, einschließlich der mikrometastatisch befallenen.

### **Ergebnisse auf Knotenbasis von Untersucher 1**

Von 123 SLN bewertete Untersucher 1, die Pathologin, mit DQ 93 und mit PAP 92 SLN als unbefallen und 25 bzw. 28 SLN als befallen. 3 Metastasen wurden sowohl mit DQ als auch mit PAP nicht erkannt. Es gab 2 (1,6 %) und 5 (4,1 %) falsch positive Diagnosen. 5 Präparate wurden mit DQ und 3 mit PAP als „nicht-auswertbar“ bewertet. Keiner der entsprechenden SLN war in der endgültigen Histologie befallen.

Untersucher 1 erreichte demnach mit der DQ-Methode auf Knotenbasis eine Sensitivität von 88,5 % und eine Spezifität von 92,8 %. Die Gesamtgenauigkeit betrug 91,9 %. Die NPW lag bei 96,8 %, der PPW bei 92 %.

Die Ergebnisse mit der Färbung nach PAP zeigten für Untersucher 1 eine Sensitivität von 88,5 % und einen NPW von 96,7 %. Der PPW betrug 82,1 %, die Spezifität 91,8 %. Es ergab sich eine GG von 91,1 %.

### **Ergebnisse auf Patientenbasis von Untersucher 1**

Alle SLN von 40 der 41 Patientinnen mit metastasenfreien SLN wären von Untersucher 1 mit DQ richtig negativ befundet worden, eine Patientin wäre trotz tumorfreier Axilla einer SAD zugeführt worden. Somit betrug die Spezifität 97,6 % und der PPW 93,8 %.

37 der 41 Patientinnen wären von Untersucher 1 mit PAP richtig negativ befundet worden, 4 Patientinnen wären trotz tumorfreier Axilla einer SAD zugeführt worden. Daraus ergibt sich eine Spezifität von 90,2 % und ein PPW von 80 %.

Bei 15 von 18 Patientinnen mit positivem axillärem Lymphknotenstatus wäre von Untersucher 1 mit DQ die korrekte Diagnose gestellt worden, 3 hätten sekundär eine SAD erhalten.

Untersucher 1 erzielte somit mit DQ eine Sensitivität von 83,3 %, einen NPW von 93 % und eine Gesamtgenauigkeit von 93,2 %.

Mit PAP wäre von Untersucher 1 bei 16 von 18 Patientinnen der positive axilläre Lymphknotenstatus erkannt worden, bei 2 Patientinnen hätte demnach sekundär eine SAD durchgeführt werden müssen. Es resultierte eine Sensitivität von 88,9 % und ein NPW von 94,9 %. Die Gesamtgenauigkeit betrug mit PAP 89,8 %.

Es gab keine Patientin, bei der von Untersucher 1 keine Diagnose gestellt werden konnte, d.h. bei allen Patientinnen war zumindest 1 SLN auswertbar (s. Tabelle 5.6).

### **Untersucher 2**

Untersucher 2, eine in der gynäkologisch-zytologischen Diagnostik tätige MTA, befundete 85 Präparate mit DQ und 89 mit PAP richtig negativ und jeweils 17 richtig positiv. Falsch positiv waren 18 Befunde mit DQ und 14 mit PAP, falsch negativ jeweils 9 mit beiden Färbungen.

Es wurde mittels DQ eine Sensitivität von 65,4 % und ein NPW von 89,8 % erzielt. Die Gesamtgenauigkeit betrug 78,1 %. Es zeigte sich eine Spezifität von 81,4 % und ein PPW von 48,6 %.

Mittels PAP betrugen die Werte 65,4 % für die Sensitivität, 85,6 % für die Spezifität und für die Gesamtgenauigkeit 81,3 %. Es ergab sich ein PPW von 54,8 %. Der NPW belief sich auf 90,2 %.

### **Untersucher 3**

Insgesamt gab es für Untersucher 3, ebenfalls eine MTA mit langjähriger Zytologie-Erfahrung, 85 richtig negativ befundete Präparate mit DQ und 89 mit PAP. Falsch negativ waren jeweils 6 Befunde. Richtig positiv beurteilte dieser Untersucher je 20 Präparate, falsch positiv waren 3 Befunde mit DQ und 5 mit PAP.

Er erreichte mit der DQ-Methode eine Sensitivität von 76,9 % und eine Spezifität von 87,6 %. Die Gesamtgenauigkeit betrug 85,4 %. Der PPW lag bei 87 %, der NPW bei 93,4 %.

Mit der PAP-Färbung erzielte Untersucher 3 eine Sensitivität von 76,9 % und eine Spezifität von 91,8 %, eine Gesamtgenauigkeit von 88,6 % und einen PPW von 80 %. Der NPW betrug 93,7 %.

### Untersucher 4

Untersucher 4, die Autorin der vorliegenden Dissertation und zum damaligen Zeitpunkt Medizinstudentin ohne Vorkenntnisse auf dem Gebiet der Zytologie, befundete 81 Präparate mit DQ und 84 mit PAP richtig negativ und jeweils 6 Präparate falsch negativ. Richtig positiv waren wie bei Untersucher 3 mit beiden Färbungen 20 Befunde, falsch positiv 13 mit DQ und 11 mit PAP.

Es wurde mit der DQ-Färbung eine Sensitivität von 76,9 % und ein NPW von 93,1 % erzielt. Für die Spezifität ergab sich ein Wert von 83,5 %. Die Gesamtgenauigkeit betrug 82,1 %. Der PPW belief sich auf 60,6 %.

Die Ergebnisse für Untersucher 4 mit der PAP-Methode betrugen für die Gesamtgenauigkeit 84,6 %, für die Sensitivität 76,9 % und für die Spezifität 86,6 %. Es ergab sich ein PPW von 64,5 % und ein NPW von 93,3 %.

### 5.4 Tabellarische Ergebnisübersicht

Die folgenden Tabellen geben eine Übersicht über die Ergebnisse des Schnellschnitts sowie aller 4 Untersucher mit beiden Färbungen.

Auf einer Seite werden absolute Ergebnisse (obere Hälfte) und daraus berechnete statistische Kennzahlen in Prozent (untere Hälfte) aufgeführt. Eine Gegenüberstellung der beiden Umcodierungen „zweifelhaft“ → „maligne“ und „zweifelhaft“ → „benigne“ findet sich jeweils auf einer Doppelseite.

Der erste Abschnitt (Tabelle 5.2 bis 5.5) zeigt die Werte für Berechnung auf Knotenbasis, der zweite (Tabelle 5.6 bis 5.9) auf Patientenbasis. Basis sind 123 SLN ohne Mikrometastasen von 59 Patientinnen.

Eine entsprechende Darstellung für alle 134 SLN inklusive der 11 SLN mit Mikrometastasen folgt in Abschnitt 5.7.

Die in den Tabellen verwendeten Abkürzungen, ihre Bedeutung, sowie Verweise auf die Erklärung im Text sind zusammenfassend nochmals in der folgenden Tabelle 5.1 zu finden.



**Tabelle 5.1:** Legende zu den Ergebnistabellen. Detaillierte Beschreibungen finden sich in den angegebenen Abschnitten.

	Abkürzung	Bedeutung
<i>Untersucher (4.4.2)</i>	U <sub>1</sub>	Pathologin
	U <sub>2</sub>	MTA 1
	U <sub>3</sub>	MTA 2
	U <sub>4</sub>	Medizinstudentin
<i>Methode (4.3.1)</i>	DQ	verwendete Färbung: Diff Quick
	PAP	verwendete Färbung: Papanicolaou
	SS	Schnellschnitt
<i>Ergebniskategorie (4.5.2)</i>	RN	richtig negativ
	FN	falsch negativ
	RP	richtig positiv
	FP	falsch positiv
	NA <sub>benigne</sub>	zytologisch nicht auswertbar, histologisch benigne
	NA <sub>maligne</sub>	zytologisch nicht auswertbar, histologisch maligne
<i>Stat. Kennwert (4.5.3)</i>	G.genauigkeit	Gesamtgenauigkeit
	Pos. pr. Wert	positiver prädiktiver Wert
	Neg. pr. Wert	negativer prädiktiver Wert

**Tabelle 5.2:** Ergebnisse auf Knotenbasis in absoluten Zahlen für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung ohne Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Absolute Zahlen</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
RN	90	89	79	83	85	89	81	84	97
FN	3	3	9	9	6	6	6	6	3
RP	23	23	17	17	20	20	20	20	23
FP	2	5	18	14	3	5	13	11	0
NA <sub>benigne</sub>	5	3	0	0	9	3	3	2	0
NA <sub>maligne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe	123	123	123	123	123	123	123	123	123

**Tabelle 5.3:** Statistische Kennwerte in Prozent für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung auf Knotenbasis ohne Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Angaben in %</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
Sensitivität	88,5	88,5	65,4	65,4	76,9	76,9	76,9	76,9	88,5
Spezifität	92,8	91,8	81,4	85,6	87,6	91,8	83,5	86,6	100,0
G.genauigkeit	91,9	91,1	78,1	81,3	85,4	88,6	82,1	84,6	97,6
Pos. pr. Wert	92,0	82,1	48,6	54,8	87,0	80,0	60,6	64,5	100,0
Neg. pr. Wert	96,8	96,7	89,8	90,2	93,4	93,7	93,1	93,3	97,0

**Tabelle 5.4:** Ergebnisse auf Knotenbasis in absoluten Zahlen für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung ohne Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Absolute Zahlen</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
RN	91	91	94	95	88	93	88	89	97
FN	9	6	12	14	10	8	15	12	3
RP	17	20	14	12	16	18	11	14	23
FP	1	3	3	2	0	1	6	6	0
NA <sub>benigne</sub>	5	3	0	0	9	3	3	2	0
NA <sub>maligne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe	123	123	123	123	123	123	123	123	123

**Tabelle 5.5:** Statistische Kennwerte in Prozent für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung auf Knotenbasis ohne Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Angaben in %</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
Sensitivität	65,4	76,9	53,8	46,2	61,5	69,2	42,3	53,8	88,5
Spezifität	93,8	93,8	96,9	97,9	90,7	95,9	90,7	91,8	100,0
G.genauigkeit	87,8	90,2	87,8	87,0	84,6	90,2	80,5	83,7	97,6
Pos. pr. Wert	94,4	87,4	82,4	85,7	100,0	94,7	64,7	70,0	100,0
Neg. pr. Wert	91,0	93,8	88,7	87,2	89,8	92,1	85,4	88,1	97,0

**Tabelle 5.6:** Ergebnisse auf Patientenbasis in absoluten Zahlen für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung ohne Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Absolute Zahlen</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
RN	40	37	29	32	39	38	31	34	41
FN	3	2	5	5	4	4	4	4	1
RP	15	16	13	13	14	14	14	14	17
FP	1	4	12	9	2	3	10	7	0
NA <sub>benigne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NA <sub>maligne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe	59	59	59	59	59	59	59	59	59

**Tabelle 5.7:** Statistische Kennwerte in Prozent für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung auf Patientenbasis ohne Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Angaben in %</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
Sensitivität	83,3	88,9	72,2	72,2	77,8	77,8	77,8	77,8	94,4
Spezifität	97,6	90,2	70,7	78,0	95,1	92,7	75,6	82,9	100,0
G.genauigkeit	93,2	89,8	71,2	76,3	89,8	88,1	76,3	81,4	98,3
Pos. pr. Wert	93,8	80,0	52,0	59,1	87,5	82,4	58,3	66,7	100,0
Neg. pr. Wert	93,0	94,9	85,3	86,5	90,7	90,5	88,6	89,5	97,6

**Tabelle 5.8:** Ergebnisse auf Patientenbasis in absoluten Zahlen für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung ohne Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Absolute Zahlen</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
RN	41	39	39	41	41	41	37	37	41
FN	6	4	7	9	8	6	10	8	1
RP	12	14	11	9	10	12	8	10	17
FP	0	2	2	0	0	0	4	4	0
NA <sub>benigne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NA <sub>maligne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe	59	59	59	59	59	59	59	59	59

**Tabelle 5.9:** Statistische Kennwerte in Prozent für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung auf Patientenbasis ohne Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Angaben in %</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
Sensitivität	66,7	77,8	61,1	50,0	55,6	66,7	44,4	55,6	94,4
Spezifität	100,0	95,1	95,1	100,0	100,0	100,0	90,2	90,2	100,0
G.genauigkeit	89,8	89,8	84,7	84,7	86,4	89,8	76,3	79,7	98,3
Pos. pr. Wert	100,0	87,5	84,6	100,0	100,0	100,0	66,7	71,4	100,0
Neg. pr. Wert	87,2	90,7	84,8	82,0	83,7	87,2	78,7	82,2	97,6

**Tabelle 5.10:** Anzahl zweifelhafter Befunde getrennt nach Untersuchern und Färbungen.

<i>Anzahl (abs. Zahlen)</i>	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		Ø U <sub>1..4</sub>	
	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP
Zweifelh. Befunde	7	5	18	17	7	6	16	11	12,0	9,8
– davon maligne	6	3	3	5	4	2	9	6	5,5	4,0
– davon benigne	1	2	15	12	3	4	7	5	6,5	5,8

**Tabelle 5.11:** Anteil zweifelhafter Befunde an allen 123 Befunden in Prozent, getrennt nach Untersuchern und Färbungen.

<i>Anteil an 123 SLN in %</i>	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		Ø U <sub>1..4</sub>	
	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP
Zweifelh. Befunde	5,7	4,1	14,6	13,8	5,7	4,9	13,0	8,9	8,9	7,2

## 5.5 Zweifelhafte Befunde

In den Tabellen 5.10 bis 5.12 findet sich eine Zusammenstellung der Anzahl zweifelhafter Befunde in der Zytologie, getrennt nach Untersuchern und Färbungen. Desweiteren wird das Ergebnis der endgültigen Histologie für den entsprechenden SLN gegenübergestellt. Bei der SS-Befundung gab es keine Kategorie „zweifelhaft“.

Wie aus den Tabellen ersichtlich, erhob Untersucher 2 die meisten zweifelhaften Befunde, Untersucher 4 die zweitmeisten. Dies betraf jeweils beide Färbungen, wobei Untersucher 4 allerdings weitaus weniger PAP-gefärbte Präparate als zweifelhaft befundete. Auch insgesamt gab es bei allen vier Untersuchern häufiger zweifelhafte Befunde mit DQ als mit PAP.

Untersucher 1, der Untersucher mit der höchsten Gesamtgenauigkeit, erhob insgesamt die wenigsten zweifelhaften Befunde. Zudem waren fast alle von Untersucher 1 als zweifelhaft befundeten SLN in der endgültigen Histologie maligne. Bei Untersucher 1 gab es 7 zweifelhafte Fälle mit DQ. In der endgültigen Histologie zeigte sich, dass 6 der entsprechenden SLN tatsächlich befallen waren. Bei PAP waren dies

**Tabelle 5.12:** Anteil tatsächlich maligner und benigner an den zweifelhaften Befunden in Prozent, getrennt nach Untersuchern und Färbungen.

<i>Anteil an zweifelh. zyt. Befunden in %</i>	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>	
	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP
Histologisch maligne	85,7	60,0	16,7	29,4	57,1	33,3	56,2	54,5
Histologisch benigne	14,3	40,0	83,3	70,6	42,9	66,7	43,8	45,5

5 als zweifelhaft befundete Präparate, wobei davon 3 der SLN eine Metastasierung aufwiesen.

Bei Untersucher 4 und bei Untersucher 3 mit DQ zeigte sich ebenfalls ein höherer Anteil befallener SLN. Hingegen waren bei Untersucher 2 fast alle Zweifelhafte metastasenfrem, unabhängig von der verwendeten Färbung. Dies waren 15 der 18 Präparate mit DQ und 12 der 17 Präparate mit PAP.

Somit profitierten fast alle Untersucher, mit Ausnahme von Untersucher 2, von einer Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

Bei Betrachtung der Häufigkeiten zweifelhafter Befunde im Verlauf der Studie, als Mass der Befundungssicherheit, zeigte sich eine Abnahme bei Untersucher 4 mit beiden Färbungen, hingegen tendentiell eher eine Zunahme bei Untersucher 2. Bei den anderen Untersuchern gab es kaum Veränderungen während des Studienverlaufs.

## 5.6 Nicht auswertbare Präparate

In dieser Studie wurden insgesamt mehr Präparate mit DQ als mit PAP als nicht-auswertbar befundet (s. Tabelle 5.2).

Untersucher 2 bewertete keines der 123 Präparate als „nicht auswertbar“. Die meisten Übereinstimmungen bei der Bewertung der Beurteilbarkeit gab es zwischen den beiden Untersuchern mit den besten Ergebnissen. Untersucher 1 hielt 5 Präparate mit DQ und 3 mit PAP für „nicht-auswertbar“, Untersucher 3 stimmte darin überein, ordnete aber noch 4 weitere Präparate mit DQ in diese Kategorie ein.

Ansonsten gab es kaum Überschneidungen bei den nicht auswertbaren Befunden zwischen den einzelnen Untersuchern.

Bei keinem der Untersucher war ein für nicht auswertbar gehaltener SLN in der endgültigen Histologie maligne.

Interessant ist desweiteren noch das Ergebnis in Bezug auf den bereits erwähnten und aus der Wertung genommenen Pseudolymphknoten. Von den meisten Untersuchern wurde dieser als „nicht-auswertbar“ befundet. Untersucher 2 erkannte den „Pseudo-Lymphknoten“ mit beiden Färbungen nicht als Fettgewebe, sondern befundete ihn als benigne.

## 5.7 Mikrometastasen

In 11 SLN fanden sich mithilfe der endgültigen Histologie bzw. Immunhistochemie ausschließlich Mikrometastasen. Davon wurden durch die intraoperativen Untersuchungsmethoden in dieser Studie nur wenige nachgewiesen.

Bei der Analyse, um welche SLN es sich hierbei handelte und ob Häufungen richtiger Befunde durch die einzelnen Untersucher bzw. Methoden bei bestimmten SLN festzustellen waren, zeigten sich die im Folgenden aufgeführten Zusammenhänge (s. hierzu auch Abschnitt 6.5).

Die meisten Mikrometastasen wurden von Untersucher 4 primär richtig befundet, allerdings jeweils nur mit einer Färbung. Dies waren 2 SLN mit DQ und ein weiterer mit PAP. Die mittels des SS erkannten Mikrometastasen wurden beide auch von Untersucher 4 mit DQ als maligne befundet, eine davon auch von Untersucher 1 mit DQ. Von den übrigen Untersuchern wurde kein mit Mikrometastasen befallener SLN als maligne befundet.

Allerdings gab es eine Häufung von zweifelhaften Befunden bei SLN mit Mikrometastasen. Bei mehreren Untersuchern wurden 3 der 11 SLN-Präparate als zweifelhaft angesehen. Eine tabellarische Auflistung der Befundung in der Histologie mikrometastatisch befallener SLN durch die 4 Untersucher und den SS, gegliedert nach den Kategorien „zweifelhaft“, „benigne“ und „maligne“, findet sich in Tabelle 5.13. Welchen Einfluss dies auf die jeweiligen statistischen Kennwerte hat, ist den Tabellen 5.14 bis 5.21 zu entnehmen.

Entsprechend der Darstellung der Ergebnisse ohne Mikrometastasen (s. Abschnitt 5.4) findet sich auf den folgenden Seiten ebenfalls eine Gegenüberstellung der Ergebnisse aller 4 Untersucher mit beiden Färbungen und des Schnellschnitts. Auch hier



**Tabelle 5.13:** Befundung der SLN mit Mikrometastasenbefall.

<i>Absolute Zahlen</i>	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		SS
	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	
Maligne	2	0	0	0	0	0	2	1	2
Zweifelhaft	2	1	3	3	3	2	2	2	—
Benigne	7	10	8	8	8	9	7	8	9
Summe	11	11	11	11	11	11	11	11	11

werden jeweils auf einer Seite absolute und prozentuale Werte und auf einer Doppelseite die verschiedenen Umcodierungen miteinander verglichen. Der erste Abschnitt zeigt die auf Knotenbasis, der zweite die auf Patientenbasis berechneten Werte. Basis sind somit 134 SLN einschließlich der 11 SLN mit Mikrometastasen von 64 Patientinnen.

Auch hier finden sich in Tabelle 5.1 die Erklärungen für verwendete Abkürzungen, sowie Verweise auf Begriffserklärungen im Text.

**Tabelle 5.14:** Ergebnisse auf Knotenbasis in absoluten Zahlen für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung mit Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Absolute Zahlen</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
RN	90	89	79	83	85	89	81	84	97
FN	10	12	15	16	14	15	13	13	12
RP	27	24	22	20	23	22	24	23	25
FP	2	5	18	14	3	5	13	11	0
NA <sub>benigne</sub>	5	3	0	0	9	3	3	2	0
NA <sub>maligne</sub>	0	1	0	1	0	0	0	1	0
Summe	134	134	134	134	134	134	134	134	134

**Tabelle 5.15:** Statistische Kennwerte in Prozent für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung auf Knotenbasis mit Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Angaben in %</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
Sensitivität	73,0	66,7	59,5	55,6	62,2	59,5	64,9	63,9	67,6
Spezifität	92,8	90,8	81,4	84,7	87,6	91,8	83,5	85,7	100,0
G.genauigkeit	87,3	84,3	75,4	76,9	80,6	82,8	78,4	79,9	91,0
Pos. pr. Wert	93,1	82,8	55,0	58,8	88,5	81,5	64,9	67,6	100,0
Neg. pr. Wert	90,0	88,1	84,0	83,8	85,9	85,6	86,2	86,6	89,0

**Tabelle 5.16:** Ergebnisse auf Knotenbasis in absoluten Zahlen für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung mit Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

<i>Absolute Zahlen</i>	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		SS
	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	
RN	91	91	79	83	85	89	81	84	97
FN	18	16	15	16	14	15	13	13	12
RP	19	20	22	20	23	22	24	23	25
FP	1	3	18	14	3	5	13	11	0
NA <sub>benigne</sub>	5	3	0	0	9	3	3	2	0
NA <sub>maligne</sub>	0	1	0	1	0	0	0	1	0
Summe	134	134	134	134	134	134	134	134	134

**Tabelle 5.17:** Statistische Kennwerte in Prozent für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung auf Knotenbasis mit Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

<i>Angaben in %</i>	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		SS
	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	
Sensitivität	51,4	55,6	37,8	33,3	43,2	48,6	35,1	41,7	67,6
Spezifität	93,8	92,9	96,9	96,9	90,7	95,9	90,7	90,8	100,0
G.genauigkeit	82,1	82,8	80,6	79,9	77,6	82,8	75,4	77,6	91,0
Pos. pr. Wert	95,0	87,0	82,4	85,7	100,0	94,7	68,4	71,4	100,0
Neg. pr. Wert	83,5	85,0	80,3	79,8	80,7	83,0	78,6	80,9	89,0

**Tabelle 5.18:** Ergebnisse auf Patientenbasis in absoluten Zahlen für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung mit Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

<i>Absolute Zahlen</i>	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		SS
	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	
RN	38	35	27	31	37	36	30	33	39
FN	6	8	8	9	9	10	8	9	7
RP	19	17	17	16	16	15	17	16	18
FP	1	4	12	8	2	3	9	6	0
NA <sub>benigne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NA <sub>maligne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe	64	64	64	64	64	64	64	64	64

**Tabelle 5.19:** Statistische Kennwerte in Prozent für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung auf Patientenbasis mit Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“.

<i>Angaben in %</i>	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		SS
	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	
Sensitivität	76,0	68,0	68,0	64,0	64,0	77,8	68,0	64,0	72,0
Spezifität	97,4	89,7	69,2	79,5	94,9	92,3	76,9	84,6	97,8
G.genauigkeit	89,1	81,3	68,8	73,4	82,8	79,7	73,4	76,6	89,1
Pos. pr. Wert	95,0	81,0	58,6	66,7	88,9	83,3	65,4	72,7	100,0
Neg. pr. Wert	86,4	81,4	77,1	77,5	80,4	78,3	78,9	78,6	84,8

**Tabelle 5.20:** Ergebnisse auf Patientenbasis in absoluten Zahlen für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung mit Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Absolute Zahlen</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
RN	39	37	37	39	39	39	36	36	39
FN	11	11	14	16	15	13	15	14	7
RP	14	14	11	9	10	12	10	11	18
FP	0	2	2	0	0	0	3	3	0
NA <sub>benigne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NA <sub>maligne</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe	64	64	64	64	64	64	64	64	64

**Tabelle 5.21:** Statistische Kennwerte in Prozent für Untersucher 1–4, getrennt nach Färbung und den Schnellschnitt. Auswertung auf Patientenbasis mit Berücksichtigung der Mikrometastasen und mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

	U <sub>1</sub>		U <sub>2</sub>		U <sub>3</sub>		U <sub>4</sub>		
<i>Angaben in %</i>	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	DQ	PAP	SS
Sensitivität	56,0	56,0	44,0	36,0	40,0	48,0	40,0	44,0	72,0
Spezifität	100,0	94,9	94,9	100,0	100,0	100,0	92,3	92,3	100,0
G.genauigkeit	82,8	79,7	75,0	75,0	76,6	79,7	71,9	73,4	89,1
Pos. pr. Wert	100,0	87,5	84,6	100,0	100,0	100,0	76,9	78,6	100,0
Neg. pr. Wert	78,0	77,1	72,5	70,9	72,2	75,0	70,6	72,0	84,8



## **Kapitel 6**

### **Diskussion**

Die SLN-Biopsie gewinnt in der Behandlung des Mammakarzinoms zunehmende Bedeutung. Verschiedene intraoperative Schnellverfahren, die sicher eine Entscheidung hinsichtlich der Durchführung einer SAD ermöglichen sollen, sind in der Literatur untersucht worden.

Hauptsächlich eingesetzte Untersuchungsmethoden zur Beurteilung der Lymphknoten während der Operation des Primärtumors sind der Gefrierschnellschnitt und die Abklatschzytologie. Der Schnellschnitt ist bereits seit Jahrzehnten als intraoperatives Verfahren in der onkologischen Chirurgie etabliert und wurde in internationalen Studien als ebenfalls zuverlässig im Schnellnachweis von Lymphknotenmetastasen bewertet.

Motivation dieser Studie war, zu überprüfen, ob die Abklatschzytologie als kostengünstiges und schnelles Verfahren eine ausreichende Befundungssicherheit gewährleistet, um entweder als Ergänzung zum Schnellschnitt oder in Einrichtungen ohne Schnellschnittlogistik alternativ angewendet zu werden. Denkbar wäre dann auch der Einsatz in Ländern, in denen weder eine Schnellschnittdiagnostik noch eine histopathologische Serienaufarbeitung der Präparate oder gar immunhistochemische Verfahren aus Kostengründen möglich sind.

### **6.1 Vergleich mit internationalen Studien**

#### **6.1.1 Fallzahlen**

Die maximale Fallzahl der Studien zur intraoperativen Lymphknotenzytologie betrug 1255 Lymphknoten von 646 Patientinnen [11], die minimale 20 Patientinnen, denen 21 Lymphknoten entnommen worden waren [54]. Der Mittelwert lag bei 273 Lymphknoten von 127 Patientinnen, der Median bei 78 Patientinnen und 162

entnommenen Lymphknoten. Die Fallzahl dieser Studie lag somit mit 123 Lymphknoten von 59 Patientinnen abzüglich oben erwähnter Fälle, bzw. 147 SLN von 66 Patientinnen insgesamt, knapp unter dem Median im internationalen Vergleich.

### 6.1.2 Tumorstadien

Insgesamt wurde in der vorliegenden Studie nur bei 4 Patientinnen mit größeren T2-Tumoren (bis zu 47 mm) die SLN-Technik angewandt. Ansonsten wurden nur Lymphknoten von Patientinnen untersucht, bei denen der Tumor einen Durchmesser  $< 25$  mm (= T1–2) aufwies. Höhere Tumorstadien wurden nicht eingeschlossen, ebenso keine Patientinnen mit klinischem Verdacht auf eine axilläre oder systemische Metastasierung (cN0, M0).

In vielen der international veröffentlichten Studien wurden auch Patientinnen mit T3- und T4-Tumoren, bzw. mit axillär tastbaren Lymphknoten untersucht. Aus diesem Vorgehen resultiert nicht nur eine höhere Metastasierungsrate, sondern auch ein höherer Anteil „hochpositiver“ Lymphknoten und damit verbunden eine höhere Sensitivität. Gerade aber in der Erkennung kleiner Metastasen liegt die Schwierigkeit bei den intraoperativen Untersuchungsmethoden.

### 6.1.3 Ergebnisse

Der Maximalwert der Gesamtgenauigkeit betrug in den internationalen Studien 99,2 %, der Minimalwert 77 %. Der Mittelwert lag bei 90 %, der Median bei 92,8 %. Das beste Ergebnis für die Sensitivität lag bei 98 % und das schlechteste bei 36,4 %. Der Mittelwert betrug 77,4 %, der Median 82 %.

Die vom besten Untersucher dieser Studie erzielte Sensitivität lag im internationalen Vergleich mit 88,5 % für beide verwendeten Färbungen im oberen Bereich, die Gesamtgenauigkeit mit über 91 % im Durchschnitt. Grundlage hierbei war eine Berechnung der Ergebnisse auf Knotenbasis unter Ausschluss der Mikrometastasen mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ (s. Abschnitt 6.3.2).

Die maximale in dieser Studie erzielte Spezifität lag mit 93 % allerdings unter dem internationalen Durchschnitt. In den Veröffentlichungen wurde meist von Ergebnissen zwischen 98 % und 100 % berichtet, mit Ausnahme der Studie von Anastasiadis et al., in der Spezifitäten von 83 % bzw. 90 %, je nach Färbung erzielt wurden [3].



Von verschiedenen Autoren wurde betont, dass falsch positive Befunde sehr beunruhigend seien, da sie zu einer Übertherapie der betroffenen Patientinnen im Sinne einer nicht notwendigen aber dennoch durchgeführten SAD führen würden. Ihre Rate müsse somit bewusst gering gehalten werden. Insbesondere müssten zweifelhafte Befunde eher als negativ eingestuft werden, was einer Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ entsprechen würde [13, 39, 68, 80]. Bei Evaluation des Studienaufbaus der internationalen Arbeiten zeigen sich zur Steigerung der Spezifität verschiedene weitere Möglichkeiten (s. auch Anhang B.2):

- In allen Studien wurde die Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ und nicht „zweifelhaft“ → „maligne“ verwendet, woraus eine höhere Spezifität bei niedrigerer Sensitivität resultiert (s. Abschnitt 6.3.2).
- In vielen Studien wurden Patientinnen mit Tumoren in hohen TNM-Stadien nicht von den Untersuchungen ausgeschlossen (s. Abschnitt 6.1.2).
- In vielen Studien wurde eine immunhistochemische Anfärbung der Abklatschpräparate angewendet.
- In einigen Studien wurde die Absprache mehrerer Untersucher untereinander zugelassen.

Ein fragwürdiges Vorgehen wurde in der Studie von Fisher et al. praktiziert ([25]). Hier wurde im Falle eines positiven Befundes in der Zytologie trotz fehlendem Metastasennachweis durch die weiterführenden Untersuchungen nicht von der Möglichkeit eines falsch positiven Ergebnisses ausgegangen, sondern von einem falsch negativen Ergebnis der histopathologischen Serienschnittaufarbeitung. Dies führte zu einer maximalen, aber nicht aussagekräftigen Spezifitätssteigerung auf 100 %, da prinzipbedingt keine falsch positiven Ergebnisse mehr vorkommen konnten.

### 6.1.4 Färbungen

#### Rolle der Färbungen in der vorliegenden Studie

Wie bereits erwähnt wurden in der vorliegenden Arbeit die intraoperativ hergestellten Abklatschpräparate mit zwei Färbungen, nämlich Diff Quick (DQ) und Papanicolaou (PAP), angefärbt und vergleichend untersucht. Die Gegenüberstellung dieser

beiden Färbungen wurde bisher, mit Ausnahme der Studie von Lee et al. [52], die allerdings ihre Ergebnisse nicht nach Färbung differenzierten, nach Kenntnisstand bei Abschluss der Literaturrecherche, in keiner anderen Studie verwendet.

**Ergebnisse des besten Untersuchers dieser Studie** Untersucher 1, die ausgebildete Pathologin, erzielte jeweils mit beiden Färbungen die besten Ergebnisse. Hierbei zeigten sich kaum Unterschiede zwischen den beiden Färbungen, wobei DQ nur minimal besser abschnitt. Im Vergleich zu der PAP-Färbung kam es zu weniger falsch positiven Befunden (2 Präparate mit DQ und 5 mit PAP). Da die Anzahl an nicht auswertbaren Präparaten aber größer war (5 Präparate mit DQ, 2 mit PAP), hatte dies auf die Gesamtgenauigkeit nur einen geringen Einfluss. Sie lag für DQ bei 91,9 % und für PAP bei 91,1 %. Unseren Ergebnissen zufolge ist es einem erfahrenen Pathologen möglich, weitgehend unabhängig von der verwendeten Färbemethode einen sicheren Befund zu erheben.

**Ergebnisse der weiteren Untersucher** Ähnliches wie für Untersucher 1 zeigte sich auch für die übrigen Untersucher. Die geringfügigen Unterschiede in den Ergebnissen rechtfertigen keine Bevorzugung einer der beiden Färbungen.

So ergab sich für Untersucher 3, der insgesamt die zweitbesten Ergebnisse erzielte, eine Gesamtgenauigkeit von 87,6 % für DQ und 91,8 % für PAP. Interessant ist desweiteren, dass auch hier die falsch-positiv-Rate für PAP höher (5 gegen 3 Fälle) und die nicht-auswertbar-Rate niedriger (3 gegen 9 Fälle) als für DQ war. Die weniger versierten Untersucher dieser Studie gaben an, dass ihnen die Diagnosestellung durch die PAP-Färbung etwas erleichtert würde. Diese subjektive Einschätzung spiegelt sich aber nur wenig in den erzielten Ergebnissen wider. Es zeigte sich eine geringfügig höhere Gesamtgenauigkeit und eine niedrigere falsch-positiv-Rate für beide Untersucher mit den niedrigeren Gesamtgenauigkeiten.

Zudem ist zu bedenken, dass im Hinblick auf Schnelligkeit und Einfachheit der Färbung DQ deutliche Vorteile gegenüber PAP bietet.

### **Rolle der Färbungen in internationalen Studien**

In den internationalen Studien wurden entweder eine oder zwei konventionelle Färbungen angewendet, oder es wurden eine konventionelle und eine immunhistoche-

mische Färbung miteinander verglichen. Von den meisten Autoren wurden bei Anwendung zweier konventioneller Färbungen allerdings die jeweiligen Ergebnisse in ihren Arbeiten nicht differenziert [11, 52, 63, 75, 77, 83]. Ursache dafür könnte sein, dass die unterschiedlich angefärbten Präparate nicht getrennt befundet wurden, sondern dass der entsprechende Pathologe die Diagnose anhand der Betrachtung mehrerer Präparate desselben Lymphknotens stellte. Nur in der Studie von Anastasiadis wurden die Ergebnisse nach verwendeter Färbung aufgeschlüsselt. Diese Ergebnisse unterschieden sich im Wesentlichen nur durch ihre Spezifitäten, die bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) 83 %, hingegen bei der Giemsa-Färbung (G) 90 % betrugen. Es zeigte sich eine Gesamtgenauigkeit von 91 % für HE und von 94 % für G [3].

Beim Vergleich von immunhistochemischen und konventionellen Färbungen kam es in internationalen Studien zu Widersprüchen zwischen den Autoren. Ku berichtete von der deutlichen Überlegenheit der Immunhistochemie, wobei die Sensitivität auf Knotenbasis 95 % mit der IHC, jedoch nur 78 % mit DQ allein betrug [49]. Nogushi wendete eine immunhistochemische Färbung an allen HE-gefärbten Abklatschpräparaten an, erreichte aber dennoch nur eine Sensitivität von 46 % [64]. Bei Lambah zeigte sich die konventionelle Zytologie mit Toluidinblau (TB) dem Schnellschnitt als gleichwertig hinsichtlich ihrer Sensitivität, die zusätzliche IHC führte in der Hand eines erfahrenen Untersuchers nicht zu einer Sensitivitätssteigerung, sondern erhöhte die falsch-negativ-Rate sogar. Die Sensitivität betrug 82 % mit TB und 36,4 % mit der IHC bei einer Spezifität von 100 % (TB), bzw. 98,5 % (IHC). Einem unerfahrenen Untersucher hingegen wurde die Diagnosestellung mit der IHC in dieser Studie erleichtert. Er erzielte eine Sensitivität von 45 % mit TB und 54,5 % mit der IHC bei einer Spezifität von 94 % bzw. 99 % [51].

In den internationalen Studien zeichnet sich somit kein klares Bild zugunsten einer bestimmten Färbung ab. Auch die Frage nach den Vorteilen bei Anwendung einer IHC wird nicht eindeutig beantwortet.

## 6.2 Vergleich mit studieninternem Schnellschnitt

Die Befundung der Schnellschnitt-Präparate erfolgte ausschließlich durch erfahrene Pathologen. Es gab drei falsch negative Ergebnisse bei den SLN mit Makrometasta-

sen, wobei allerdings nur zwei von elf Mikrometastasen erkannt wurden. Für die Befunderhebung unter Ausschluss der Mikrometastasen wurde somit eine hohe Sensitivität von 88,5 % erzielt. Bei Mitbetrachtung der mikrometastatisch befallenen SLN sank die Sensitivität allerdings auf 67,6 %. Falsch positive Ergebnisse kamen nicht vor, die Spezifität betrug 100 %. Eine Kategorie „zweifelhaft“ gab es in dieser Studie für den Schnellschnitt nicht. Insgesamt zeigte sich, dass im Hinblick auf die Sensitivität Schnellschnitt und von einem guten Untersucher beurteilte Zytologie ähnlich gute Ergebnisse lieferten, der Schnellschnitt aber spezifischer war.

Bei der Beurteilung dieser vielversprechenden Ergebnisse dürfen aber die Nachteile des Schnellschnitts gegenüber der zytologischen Methode nicht außer Acht gelassen werden. Nachteilig sind die damit verbundenen höheren Kosten, besonders Anschaffungskosten für die Geräte, ein höherer Arbeits- und Zeitaufwand für die Präparateherstellung, vor allem im Vergleich mit der DQ-Färbung und ein teils erheblicher Verlust von Lymphknotengewebe, laut Baitchev et al. und Van Diest et al. bis zu 25–50 % [4, 83].

Zudem steht nicht jeder Abteilung ein qualitativ hochwertiges Schnellschnittverfahren zur Verfügung. In der Literatur werden sehr unterschiedliche Ergebnisse genannt. So berichtet Veronesi von falsch-negativ-Raten von über 30 % [85], Motomura von einer Sensitivität von nur 52 % [62] und Fisher sowie Turner von Sensitivitäten über 90 % [25, 79].

Insgesamt lässt sich sagen, dass beide Methoden durchaus vergleichbar sind. In einer Abteilung mit einem guten Schnellschnittstandard kann je nach Erfahrung mit zytologischen Verfahren entschieden werden, ob für die intraoperative Lymphknotendiagnostik Schnellschnitt oder Zytologie allein oder beide Methoden in Kombination eingesetzt werden. Ist andererseits bisher kein Schnellschnitt vorhanden oder von minderer Qualität, könnte die Lymphknotenzytologie eine interessante Alternative darstellen.

### **6.3 Zweifelhafte Befunde**

Bei der Lymphknotenzytologie besteht selbst bei optimaler Probenentnahme und Herstellung der Präparate immer die Möglichkeit von nicht eindeutigen Befunden, da die sichere Einordnung von verdächtigen Einzelzellen besonders bei entzündlich

oder regressiv veränderten Lymphknoten schwierig sein kann und ein Gewebzusammenhang, der die Interpretation erleichtert, bei dieser Methode fehlt (s. Abschnitt 4.5.3). In der vorliegenden Studie wurden nicht eindeutige Befunde von den Untersuchern in die Kategorie „zweifelhaft“ eingeordnet.

### **6.3.1 Bedeutung der zweifelhaften Befunde**

Es stellt sich nun die Frage, wie in einem solchen zweifelhaften Fall vorgegangen werden sollte, wenn von dem Ergebnis der intraoperativen Untersuchung die Entscheidung über das weitere operative Vorgehen, also die Durchführung der SAD, abhinge.

Im Falle einer großzügigen Indikationsstellung für die SAD würde man die Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ bevorzugen und somit zweifelhafte Befunde den malignen zuordnen und dementsprechend therapieren. Nachteil dieser Vorgehensweise wäre, dass sich die falsch-positiv-Rate erhöhen würde und damit der Anteil nodal negativer Patientinnen, bei denen eine SAD bei vorangegangener SLN-Biopsie durchgeführt würde. Zu berücksichtigen ist hierbei, dass es sich bei der SAD um eine Massnahme mit deutlichen Komplikationen handelt, die bei Patientinnen mit nodal negativem Mammakarzinom keinen nachgewiesenen therapeutischen Effekt, sondern einen rein diagnostischen Wert hat.

Vorteil wäre allerdings, dass die falsch-negativ-Rate sinken würde und damit die Anzahl der Zweiteingriffe nach Vorliegen der endgültigen Histopathologie. Nodal positive Patientinnen, bei denen die Zytologie zweifelhafte Befunde ergibt, würden von einer sofortigen Durchführung der SAD, d.h. einer Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ profitieren, da ihnen Aufwand und Belastung einer erneuten Operation erspart blieben.

Würde man andererseits die Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ anwenden, ginge man bei zweifelhaften Befunden vor wie bei benignen. Dies hätte bei tatsächlich nodal negativen Patientinnen eine Reduktion von Komplikationen durch Verzicht auf die SAD zur Folge.

Für nodal positive Patientinnen ergeben sich zwei mögliche Konsequenzen: Bei postoperativer Durchführung der endgültigen Histologie bestünde im Falle einer Befundkorrektur die Notwendigkeit eines Zweiteingriffs. Dieser stellt eine nicht unerhebliche Belastung für die Patientin und einen Mehraufwand hinsichtlich Zeit,

Kosten und OP-Kapazitäten dar. In Ländern, in denen eine weitergehende Aufarbeitung der SLN aus Kostengründen nicht möglich ist, käme es zu einem inadäquaten Staging mit möglicherweise nicht stadiengerechter Anschlusstherapie und lokalem Rezidiv.

### **6.3.2 Einfluss der Umcodierung auf das Untersuchungsergebnis**

Es gibt grundsätzlich, wie schon erwähnt, bei der Ergebnisberechnung zwei Möglichkeiten der Umcodierung, nämlich die Zuordnung der zweifelhaften Befunde zu den malignen oder zu den benignen Befunden. In dieser Studie wurden zur besseren Transparenz, wie in Abschnitt 4.5.1 beschrieben, beide Berechnungen durchgeführt.

Hierbei zeigte sich, dass die Umcodierung eine deutliche Verschiebung der statistischen Masszahlen bewirkte (s. Tabelle 6.1). Ursache war die teils relativ hohe Anzahl zweifelhafter Befunde bei den einzelnen Untersuchern.

Prinzipiell verbessert die Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ die erreichte Sensitivität auf Kosten der Spezifität. Umgekehrt verhält es sich bei der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“.

Zudem spielt natürlich auch der Anteil der tatsächlich befallenen SLN bezogen auf die als zweifelhaft befundeten eine Rolle. In dieser Studie zeigte sich, dass außer Untersucher 2 alle Untersucher hinsichtlich ihrer Gesamtgenauigkeiten von einer Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ profitierten, da die Anzahl der in der endgültigen Histologie befallenen SLN unter den zweifelhaften überwog (s. auch Kapitel 5.5 und 6.6).

Unter Berücksichtigung aller o.g. Aspekte wurde in dieser Studie die Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ für die spätere Anwendung in der Praxis als vorteilhaft erachtet. Unter dem Gesichtspunkt der Risikoabwägung erscheint ein falsch negatives Untersuchungsergebnis schwerwiegender als die möglichen Komplikationen bei Durchführung der SAD, besonders wenn weiterführende Untersuchungsmethoden nicht zur Verfügung stehen. Eine Umcodierung ist natürlich in der Praxis nur notwendig, wenn bei einer Patientin keine weiteren SLN vorliegen, welche eine eindeutige Metastasierung zeigen.

Obwohl ein standardisiertes Vorgehen prinzipiell wünschenswert ist, empfiehlt sich im Einzelfall der Dialog mit der betroffenen Patientin, nach detaillierter Aufklärung und ihre Einbeziehung in die Entscheidung über das weitere Vorgehen.

Tabelle 6.1: Einfluss der Umcodierung auf das Untersuchungsergebnis.

Angaben in %		Sensitivität		Spezifität		Gesamtgenauigkeit	
		zweifelhaft →		zweifelhaft →		zweifelhaft →	
		benigne	maligne	benigne	maligne	benigne	maligne
U <sub>1</sub>	DQ	65,4	88,5	93,8	92,8	87,8	91,9
	PAP	76,9	88,5	93,8	91,8	90,2	91,1
U <sub>2</sub>	DQ	53,8	65,4	96,9	81,4	87,8	78,1
	PAP	46,2	65,4	97,9	85,6	87,0	81,3
U <sub>3</sub>	DQ	61,5	76,9	90,7	87,6	84,6	85,4
	PAP	69,2	76,9	95,9	91,8	90,2	88,6
U <sub>4</sub>	DQ	42,3	76,9	90,7	83,5	80,5	82,1
	PAP	53,8	76,9	91,8	86,6	83,7	84,6

Eine hilfreiche Alternative zu einer Umcodierung bestünde bei zweifelhaft befundenen Präparaten in der Doppelbefundung durch einen weiteren Untersucher. Eine andere Möglichkeit wäre die intraoperative Kombination von mehreren diagnostischen Methoden wie zum Beispiel der Zytologie und dem Schnellschnitt.

## 6.4 Nicht auswertbare Präparate

Die Auswertbarkeit eines zytologischen Präparates hängt bekanntermassen von verschiedenen Faktoren ab, wie Beschaffenheit und Menge des entnommenen Gewebes, Abklatschtechnik, Fixierung und Färbemethode, sowie Alter und Qualität der verwendeten Farben.

Desweiteren ist die Einschätzung, ob ein Präparat auswertbar ist oder nicht, subjektiv. So gab es in dieser Studie die meisten Übereinstimmungen bezüglich der Nicht-Auswertbarkeit zwischen den beiden Untersuchern mit den besten Ergebnissen, aber kaum Übereinstimmungen zwischen den übrigen Untersuchern (s. Abschnitt 5.6). Unter Studienbedingungen wurde den nicht auswertbaren Präparaten eine eigene Kategorie zugeteilt und dies in den Berechnungen entsprechend berücksichtig.

sichtigt (s. Abschnitt 4.5.3), da das weitere operative Vorgehen nicht von den zytologischen Befunden abhing, sondern die SAD in jedem Fall durchgeführt wurde.

Bei Einsatz der Zytologie in der Routinediagnostik würde man bei nicht auswertbaren Präparaten eine praktikable Lösung finden müssen. Notwendig wäre dies natürlich nur, wenn es sich um den einzigen SLN einer Patientin handelte oder die übrigen nicht eindeutig Metastasen aufwiesen.

Es gäbe hierfür verschiedene Vorgehensweisen, ähnlich wie bei zweifelhaften Befunden. Zunächst kann es hilfreich sein, einen weiteren Untersucher hinzuzuziehen. Ist dies nicht möglich oder kommt er zu demselben Schluss, könnte man, falls es SLN-Größe und -beschaffenheit zulassen, ein Alternativverfahren wie z.B. den Schnellschnitt anwenden. Allerdings kann seine Durchführung ebenfalls Schwierigkeiten bereiten, und der erhöhte Materialverbrauch kann insbesondere bei sehr kleinen SLN oder Mikrometastasen problematisch sein.

Falls eine intraoperative Untersuchung des entsprechenden Lymphknotens nicht möglich ist, könnte man entweder die SAD sofort durchführen und somit vorgehen, als sei die Axilla befallen, da ein metastatischer Befall nicht ausgeschlossen werden kann. Oder man ginge vor, als sei die Axilla metastasenfrei. Argument hierfür wäre, dass meist nur kleine SLN schlecht aufzuarbeiten und zu beurteilen sind. Diese sind aber auch seltener befallen, da eine Metastasierung meist mit Lymphknotenvergrößerungen einhergeht. Dann würde man die endgültige Histologie abwarten und gegebenenfalls einen Zweiteingriff vornehmen.

Die Vor- und Nachteile der jeweiligen Vorgehensweisen wurden bereits in Abschnitt 6.3 diskutiert. Auch hier empfiehlt sich wieder der Dialog mit der betroffenen Patientin, möglichst im Rahmen des präoperativen Aufklärungsgesprächs.

### **6.5 Problematik der Mikrometastasen**

Bisher konnte in internationalen Studien keine Prognoseverschlechterung für Patientinnen mit Mikrometastasen in SLN nachgewiesen werden.

Ferner sei bei Mikrometastasen in SLN das Vorhandensein von Makrometastasen in Nicht-SLN sehr unwahrscheinlich.

Somit werden diese Befunde nach aktuellen Empfehlungen einer Therapie entsprechend einer N0-Situation zugeführt [43]. In der Literatur herrscht allerdings



Uneinigkeit darüber, ob das Langzeitüberleben der betroffenen Patientinnen nicht dennoch beeinträchtigt wird. Um dieser Situation Rechnung zu tragen, wurden in der vorliegenden Studie getrennte Auswertungen mit und ohne Einschluss der Mikrometastasen durchgeführt. Hierbei zeigte sich deutlich, dass unabhängig von Technik, Untersucher und Färbung im Nachweis solcher Metastasen eine Schwäche intraoperativer Untersuchungsmethoden liegt. In Tabelle 6.2 findet sich eine Gegenüberstellung der jeweiligen Ergebnisse.

Sowohl im Schnellschnitt als auch in der Zytologie wurden nur wenige Lymphknoten mit Mikrometastasierung primär richtig befundet. Dies waren maximal 3 der 11 Mikrometastasen für die Zytologie und 2 für den Schnellschnitt. Bei Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ lag die Rate an erkannten Mikrometastasen und somit die erzielte Sensitivität deutlich höher, aufgrund des hohen Anteils an zweifelhaften Befunden bei Präparaten von mikrometastatisch befallenen SLN.

Interessant ist weiterhin die Frage, ob es bestimmte Häufungen bei einzelnen SLN gab, also ob es SLN gab, bei denen alle und solche bei denen kein Untersucher, bzw. keine Methode einen korrekten Befund erheben konnte. Hierzu wurden bei den Auswertungen alle Befunde für einen bestimmten SLN einander gegenübergestellt. Die Ergebnisse aller Untersucher mit beiden Färbungen und der Schnellschnitt konnten somit direkt verglichen werden.

So gab es insgesamt 3 SLN mit Mikrometastasen, bei denen kein Untersucher mit keiner der Färbungen einen Verdacht auf Malignität äusserte. Ursache hierfür könnte ein Auswahl- oder Stichprobenfehler sein, also ein Fehler der zytologischen Methode selbst, nicht des jeweiligen Untersuchers, da möglicherweise die Metastasenzellen außerhalb der gewählten Schnittfläche lagen und somit nicht erkannt werden konnten.

Im Gegensatz dazu wurde bei weiteren 3 der SLN mit Mikrometastasen von allen Untersuchern mit zumindest einer Färbung sowie dem Schnellschnitt ein zweifelhafter oder positiver Befund erhoben. Vermutlich befanden sich bei diesen Präparaten deutlich sichtbare Metastasenzellen auf der gewählten Schnittfläche. Die übrigen 5 Mikrometastasen wurden jeweils von ein oder zwei Untersuchern mit einer oder beiden Färbungen oder dem Schnellschnitt als verdächtig bzw. maligne befundet. Auffällig war zwar ein hoher Anteil zweifelhafter Befunde in der Zytologie bei mikrometastatisch befallenen SLN. Unabhängig von dem jeweiligen Untersucher und

**Tabelle 6.2:** Änderung der Ergebnisse am Beispiel der Sensitivität durch unterschiedliche Umcodierung und Berücksichtigung der Mikrometastasen. Beachte die veränderte Gesamtanzahl von SLN. Diese betrug 123 SLN ohne und 134 SLN mit Einschluss der Mikrometastasen.

Sensitivität		ohne Mikrometastasen		mit Mikrometastasen	
		zweifelhaft →		zweifelhaft →	
<i>Angaben in %</i>		benigne	maligne	benigne	maligne
U <sub>1</sub>	DQ	65,4	88,5	51,4	73,0
	PAP	76,9	88,5	54,1	64,9
U <sub>2</sub>	DQ	53,8	65,4	37,8	59,5
	PAP	46,2	65,4	32,4	54,1
U <sub>3</sub>	DQ	61,5	76,9	43,2	62,2
	PAP	69,2	76,9	48,6	59,5
U <sub>4</sub>	DQ	42,3	76,9	35,1	64,9
	PAP	53,8	76,9	40,5	62,2
SS		88,5	88,5	67,6	67,6

der Methode wurden Mikrometastasen aber meist nicht ausreichend sicher erkannt. Dies galt auch für den Schnellschnitt. Somit lag im Erkennen von Mikrometastasen eine Schwäche beider intraoperativer Untersuchungsmethoden. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Aussagen der meisten internationalen Studien.

Sollte man in Zukunft auf der Basis von Langzeitstudien zu dem Schluss kommen, dass aus einer Mikrometastasierung eine Prognoseverschlechterung resultiert, wird eventuell eine Änderung der Vorgehensweise notwendig. So wäre entweder eine Therapieänderung nach Vorliegen der endgültigen Histologie, also die Durchführung der SAD in zweiter Sitzung, notwendig. Oder aber man erzielte eine Erhöhung der Sensitivität der intraoperativen Untersuchungsmethoden bei Wunsch nach einer 1-Schritt-Prozedur.

Zu bedenken ist hierbei allerdings, dass auch bei Ausschöpfung aller intraoperativen Möglichkeiten bisher in den internationalen Studien kein ausreichend sicheres

Verfahren zur Erkennung von Mikrometastasen gefunden werden konnte, welches nicht einen erheblichen Zeit- und Kostenaufwand mit sich gebracht hätte. Die Diagnosestellung sollte schließlich nicht über das Operationsende hinaus verzögert werden, falls ein einzeitiges Vorgehen geplant ist.

Bereits angewendet wurden die Aufarbeitung von Serienschnitten, die Schnell-IHC von Zytologie oder Schnellschnitt und andere intraoperative Untersuchungsmethoden, wie z.B. eine Schnell-PCR oder die Durchflusszytometrie. Letztere wurden nur in wenigen Studien untersucht und erbrachten darin bisher ebenfalls keinen eindeutigen Vorteil [14].

## **6.6 Untersucherabhängigkeit der Methode**

Eines der Ziele dieser Studie war, wie bereits erwähnt, herauszufinden, inwieweit die Untersucherabhängigkeit der SLN-Zytologie Einfluss auf die Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Ergebnisse hat, also ob eventuell auch zytologisch unerfahrenes Personal in der Lage ist, mit ausreichender Sicherheit intraoperativ einen Metastasenbefall der SLN nachzuweisen oder auszuschließen (s. Abschnitt 5.5).

Der Studienaufbau sollte dieser Fragestellung Rechnung tragen, indem die Ergebnisse von vier unabhängigen, unterschiedlich ausgebildeten Untersuchern miteinander verglichen wurden.

Insgesamt erzielte Untersucher 1, die erfahrene Pathologin, unabhängig von der jeweiligen Färbung bei gleicher Umcodierung die besten Ergebnisse für alle statistischen Kennwerte. Sie erhob desweiteren die wenigsten zweifelhaften Befunde von allen Untersuchern. Bei den entsprechenden Präparaten zeigte sich außerdem in der endgültigen Histologie häufig tatsächlich ein metastatischer Befall. Man kann demnach bei diesem Untersucher von einer hohen Befundungssicherheit sprechen. Je nach gewählter Umcodierung ergab sich eine Schwankung der Sensitivität von rund 12 %-Punkten für PAP und rund 23 %-Punkten für DQ. Die Gesamtgenauigkeit fiel allerdings nur um 4,1 %-Punkte mit DQ und 0,9 %-Punkte mit PAP, aufgrund der um 1–2 %-Punkte höheren Spezifität bei Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“. Sie lag jeweils über 90 %, außer für DQ mit der Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ (87,8 %). Eine Veränderung von Fehlerhäufigkeiten oder zweifelhaften Befunden im Studienverlauf fand sich bei Untersucher 1 nicht. Falsche

und zweifelhafte Befunde traten selten und unregelmässig über den gesamten Studienverlauf verteilt auf. Eine Lernkurve konnte also hier nicht nachgewiesen werden.

Untersucher 2, eine MTA mit langjähriger Erfahrung auf dem Gebiet der gynäkologischen Zytologie, erhob die meisten zweifelhaften Befunde. Fast alle davon waren in der endgültigen Histologie metastasenfrei. Dadurch profitierte Untersucher 2 von einer Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“. Als einziger Untersucher erreichte er eine deutliche Steigerung der Gesamtgenauigkeit um 9,7 %-Punkte für DQ und 5,7 %-Punkte für PAP. Auch bei Untersucher 2 fand sich keine Lernkurve, es kam eher zu einer Zunahme der zweifelhaften Befunde gegen Ende der Studie. Insgesamt erzielte dieser Untersucher bei Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ die niedrigste Sensitivität, Spezifität und Gesamtgenauigkeit mit beiden Färbungen.

Untersucher 3, eine ebenfalls zytologisch versierte MTA, erreichte die zweitbesten Ergebnisse für Gesamtgenauigkeit und Spezifität mit DQ, bei gleich hoher Sensitivität mit beiden Färbungen wie Untersucher 4 und gleich hoher Spezifität mit PAP wie Untersucher 1. Auch hier fiel eine insgesamt geringe Anzahl zweifelhafter Befunde auf. Im Gegensatz zu der Pathologin fand sich aber ein nahezu gleich hoher Anteil befallener wie metastasenfreier Lymphknoten. Die Werte schwankten nur um einen SLN bei DQ zugunsten der malignen, bei PAP zugunsten der benignen Befunde. Daher ergab sich bei Gegenüberstellung der Umcodierungen hier nur eine geringe Schwankung der Gesamtgenauigkeit von 0,8 %-Punkten für DQ und eine etwas höhere von 1,6 %-Punkten für PAP. Für die Sensitivität kam es bei der Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ bei DQ zu einer Steigerung um 7,7 %-Punkte und bei PAP zu einem Abfall um 15,4 %-Punkte. Wie bei Untersucher 1 ließ sich auch bei Untersucher 3 keine Abnahme von Fehlerhäufigkeiten und zweifelhaften Befunden im Studienverlauf beobachten.

Der auf dem Gebiet der Zytologie unerfahrenste Untersucher 4 machte zu Beginn der Studie die meisten Fehler. Er erhob die meisten zweifelhaften Befunde am Anfang, allerdings nur die zweitmeisten insgesamt, da es, anders als bei den übrigen Untersuchern, zu einer Abnahme der Häufigkeit im Studienverlauf kam. Somit erzielte er bei Umcodierung „zweifelhaft“ → „maligne“ insgesamt bessere Ergebnisse mit einer geringeren Zweifelhaft-Rate als Untersucher 2. Bei Umcodierung „zweifelhaft“ → „benigne“ fiel die Sensitivität allerdings, aufgrund des hohen Anteils zweifelhafter Befunde, von denen mehr als die Hälfte tatsächlich befallen waren, um

über 34 %-Punkte mit DQ und rund 23 %-Punkte mit PAP.

Somit zeigte sich in dieser Studie, dass die Zuverlässigkeit der Abklatschzytologie von Lymphknoten stark untersucherabhängig ist. Allerdings hingen die Ergebnisse der Zytologie in dieser Studie zwar deutlich vom jeweiligen Untersucher ab, korrelierten aber nicht unbedingt mit dem Ausbildungsstand. Ein zytologisch unerfahrener Untersucher konnte, nach entsprechender Anleitung, durchaus gute Ergebnisse erzielen. Die Erfahrungen der vorliegenden Arbeit decken sich aber dennoch mit der in internationalen Studien geäußerten Ansicht, dass ein erfahrener Pathologe die besten Ergebnisse und die höchste Befundungssicherheit gewährleistet.

Die Befunderhebung im Fall grob metastatisch durchsetzter SLN bereitete keinem der Untersucher mithilfe der Zytologie Schwierigkeiten. Bei starkem metastatischem Befall kann demnach im Allgemeinen die richtige Diagnose auch ohne besondere Vorkenntnisse gestellt werden.

### **6.7 Schwachpunkte, Fehleranalyse, Verbesserungsmöglichkeiten**

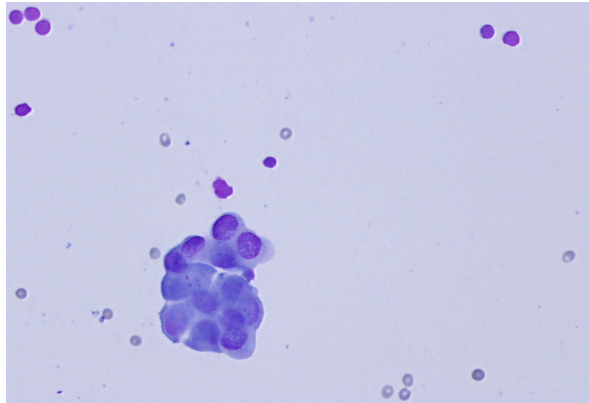
Ein Schwachpunkt der Abklatschzytologie liegt darin, dass das Material zur Abklatschherstellung zunächst durch mehrere Hände geht, bevor es in das zytologische Labor gelangt. Die Präparatherstellung beginnt schon im Operationssaal während der Durchführung der entsprechenden Operation.

Somit ist es essentiell, dass standardisierte Abläufe festgesetzt werden und das beteiligte OP-Personal ausführlich über den Umgang mit dem Material angeleitet wird, um Fehler unter Zeitdruck zu vermeiden und die Qualität der Abklatschpräparate zu optimieren.

In dieser Studie kam es, wie in Abschnitt 4.4.4 bereits erwähnt, nur bei zwei Patientinnen zu größeren Fehlern, wobei alle Abklatschpräparate, einmal von 4, einmal von 5 SLN einer Patientin, in Formalin gegeben wurden und somit eine DQ-Färbung nicht mehr möglich war. Die entsprechenden Lymphknoten wurden bei den Berechnungen nicht berücksichtigt.

Im Labor sollten die verwendeten Materialien qualitativ hochwertig sein. Die Färbeprotokolle sollten auf die individuellen Gegebenheiten abgestimmt und sorgfältig eingehalten werden.

Eine weitere Möglichkeit zur Verbesserung der erhobenen Befunde ist, nach An-



**Abbildung 6.1:** Versprengte Metastase im Bereich des Objektträgerrandes (DQ-Färbung).

sicht der an dieser Studie beteiligten Untersucher, die vollständige, systematische Betrachtung des gesamten Objektträgers. Versprengte, eventuell metastatisch befallene Zellen im Objektträgerrandbereich, wie in Abbildung 6.1 zu sehen, können sonst leicht übersehen werden.

Kaum zu beeinflussende Schwierigkeiten können sich aus der Beschaffenheit des entnommenen Materials ergeben. So spielen Größe und Konsistenz der zu untersuchenden Lymphknoten eine Rolle, da von zu kleinen oder verhärteten Lymphknoten nicht genug Zellmaterial gewonnen werden kann, um eine sichere Diagnostikstellung zu gewährleisten. Die Anwendung der Schnellschnittmethode ist dann eventuell ebenfalls eingeschränkt, so dass man in seltenen Fällen auf eine intraoperative Befunderhebung des entsprechenden SLN zugunsten einer Materialsparring für die endgültige Histologie verzichten muss. Von Vorteil ist es, wenn noch weitere SLN vorliegen, die für die Schnellmethoden besser geeignet sind.

Auch die Größe der bei Metastasierung vorhandenen, entarteten Zellformationen hat entscheidende Bedeutung für die Befundungssicherheit. Es kann sein, dass bei der Anfertigung der zytologischen Präparate am Tumor vorbeigeschnitten wird oder nur wenige entartete Zellen auf der Schnittfläche erscheinen. Dies ist besonders bei Vorliegen von Mikrometastasen oder einzelnen versprengten Metastasenzellen relativ wahrscheinlich, wie bereits in Abschnitt 6.5 erwähnt wurde.

Andererseits gibt es Lymphknoten, die so von Metastasen durchsetzt sind, dass diese in jedem Fall angeschnitten werden und die Präparate auch von unerfahrenen Untersuchern sicher als befallen diagnostiziert werden können. Der sichere Aus-

**Tabelle 6.3:** Möglichkeiten für benigne Befunde.

	<i>Ergebniskategorie</i>	<i>Fehlerursache</i>
N0, keine Metastase vorhanden	richtig negativ	—
N1, aber Vorbeischneiden an Metastase	falsch negativ	Methodenfehler
N1, aber Nichterkennung maligner Zellen	falsch negativ	Untersucherfehler

**Tabelle 6.4:** Möglichkeiten für maligne Befunde.

	<i>Ergebniskategorie</i>	<i>Fehlerursache</i>
N1, Metastase vorhanden und erkannt	richtig positiv	—
N0, aber Pseudometastase vorhanden	falsch positiv	Methodenfehler
N0, aber falsche Interpretation des Abklatsches	falsch positiv	Untersucherfehler

schluss einer Metastasierung gelingt mittels der Zytologie somit nicht, allenfalls ein relativ sicherer Nachweis maligner Zellen. Auch eine intraoperative Serienschnittuntersuchung bringt hier wahrscheinlich keinen entscheidenden Vorteil, wie aus den Ergebnissen internationaler Studien ersichtlich. Sie birgt aber eine nicht unerhebliche Steigerung von Aufwand, Zeit und Gewebsverbrauch.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass ein unklarer oder falscher Befund also nicht unbedingt durch ein Übersehen vorhandener Metastasenzellen durch den Untersucher bedingt sein muss, sondern dass unterschiedliche Ursachen auf verschiedenen Ebenen zugrunde liegen können (s. Abschnitt 4.4.4 und Tabellen 6.3 und 6.4).

Eine Einweisung des beteiligten Personals im Operationssaal, die genaue Einhaltung der Färbeprotokolle im zytologischen Labor, sowie das vollständige Durchrastern des Objektträgers bei der Befundung helfen, die vermeidbaren Fehler zu minimieren und somit eine qualitativ hochwertige Abklatschzytologie von SLN zu gewährleisten.





## Kapitel 7

### Zusammenfassung

Die Ergebnisse aktueller Studien zum Einsatz der Wächter- oder Sentinel-Lymphknoten (SLN)-Methode in der Therapie des Mammakarzinoms sind sehr vielversprechend. Für den Einsatz der SLN-Biopsie in der Praxis ist eine zuverlässige intraoperative Befundung der entnommenen Lymphknoten allerdings essentiell, möchte man die im Falle einer lymphatischen Metastasierung notwendige Standard Axilla-dissektion in einer Sitzung mit der Operation des Primärtumors durchführen können. Anforderung an eine intraoperative Untersuchungsmethode sind eine möglichst schnelle Durchführbarkeit bei hoher Genauigkeit und möglichst geringem Materialverbrauch.

Konkurrierende Schnellverfahren in der SLN-Diagnostik sind der Gefrier-Schnellschnitt und die Abklatschzytologie. Die Anwendung in der Praxis könnte einem Großteil der Frauen mit Metastasen in einem SLN einen Zweiteingriff zur axillären Ausräumung ersparen. Die Ergebnisse der Zytologie in internationalen Studien sind mit denen des Schnellschnitts durchaus vergleichbar, welcher eine klassische Methode zur intraoperativen Befunderhebung darstellt. Vorteile der Zytologie sind die schnellere, Kosten und Lymphknotengewebe sparende Anwendung.

In dieser Studie wurde untersucht, welche Zuverlässigkeit die Zytologie im Vergleich zum Schnellschnitt hat und wie diese vom jeweiligen Untersucher und der verwendeten Färbung abhängt. Zu diesem Zweck wurden Abklatschpräparate von 134 SLN von 64 Patientinnen angefertigt. Verwendete Färbungen waren Diff Quick und Papanicolaou. Die Präparate wurden von vier Untersuchern mit unterschiedlicher Ausbildung und Erfahrung befundet. Die Ergebnisse wurden mit der endgültigen Histologie verglichen und anhand statistischer Masszahlen ausgewertet.

Im internationalen Vergleich zeigte sich, dass der beste Untersucher in dieser Studie hinsichtlich Gesamtgenauigkeit und Sensitivität zu ähnlich guten bis besseren

Ergebnissen kam als die anderen Arbeitsgruppen im Durchschnitt, bei einer allerdings im Durchschnitt geringeren Spezifität.

Es ließ sich eine deutliche Variabilität der Ergebnisse in Abhängigkeit vom jeweiligen Untersucher feststellen. Lernkurven konnten bei keinem der Untersucher sicher nachgewiesen werden. Eine eindeutige Überlegenheit einer der beiden eingesetzten Färbungen zeigte sich nicht. Vorteil der Diff Quick-Methode ist die einfache und schnelle, sowie kostengünstige Durchführbarkeit. Vorteilhaft bei der Papanicolaou-Färbung ist, dass sie in gynäkologischen Abteilungen routinemässig zur Anfärbung von Abstrichpräparaten eingesetzt wird, so dass das zytologische Personal bereits über Erfahrung im Umgang mit der Methode verfügt.

Verschiedene Fehler traten im Studienverlauf auf, aus denen aber in den meisten Fällen keine wesentliche Einschränkung für Herstellung oder Beurteilbarkeit der Präparate resultierte. Um eine qualitativ hochwertige, gewebssparende Untersuchung der SLN zu gewährleisten empfiehlt es sich, das beteiligte Personal über den Umgang mit Lymphknoten, Färbesubstanzen und Präparaten eingehend zu schulen. So lässt sich ein Großteil der Fehler vermeiden, was die Befundung wesentlich erleichtert und die zeitlichen Abläufe beschleunigt.

Nach den Ergebnissen dieser Studie handelt es sich bei der Abklatschzytologie um eine wertvolle, unaufwändige, sowie kosten- und gewebssparende Methode zur intraoperativen Diagnostik von Lymphknotenmetastasen. In der Hand eines erfahrenen Untersuchers sind die Ergebnisse der Zytologie, unabhängig von der verwendeten Färbung, mit denen des Schnellschnitts vergleichbar. Je nach individuellen Gegebenheiten, wie Vorhandensein eines zytologischen Labors oder eines Gefrierschnittautomaten, könnte eine der beiden Methoden in der Routine der intraoperativen Lymphknotendiagnostik eingesetzt werden. Eine Kombination von Zytologie und Schnellschnitt ist ebenfalls denkbar. Durch ein solches Vorgehen könnte vielen Patientinnen ein Zweiteingriff zur axillären Lymphknotendisektion erspart bleiben.

## Anhang A

### Stadieneinteilung des Mammakarzinoms

#### A.1 TNM-Stadien

<i>T</i>	<i>Primärtumor</i>
cT...	Primärtumor: klinischer Untersuchungsbefund
pT...	Primärtumor: histologischer Untersuchungsbefund
Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
Tis	Carcinoma in situ
T1	Invasives Karzinom, Tumor < 20 mm in grösster Ausdehnung
T2	Tumor 20–50 mm in grösster Ausdehnung
T3	Tumor > 50 mm
T4	Tumor jeder Grösse mit Infiltration von Brustwand und / oder Haut
<i>N</i>	<i>Regionäre Lymphknoten</i>
cN...	Regionäre Lymphknoten: klinischer Untersuchungsbefund
pN...	Regionäre Lymphknoten: histologischer Untersuchungsbefund
Nx	Regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar
N0	Keine Lymphknoten-Metastasen nachweisbar
N...(mi)	Nur Mikrometastasen (0,2–2 mm) nachweisbar
N1a	Metastasen in 1–3 axillären Lymphknoten
N1b	Klinisch nicht erkennbare Metastasen in Lymphknoten entlang der A. mammaria int.
N1c	N1a & N1b

*Fortsetzung auf nächster Seite...*

## ANHANG A STADIENEINTEILUNG DES MAMMAKARZINOMS

N2a	Metastasen in 4–9 axillären Lymphknoten
N2b	Klinisch erkennbare Lymphknotenmetastasen entlang der A. mammaria int. ohne Befall axillärer Lymphknoten
N3a	Metastasen in mehr als 9 axillären Lymphknoten <i>oder</i> infraklavikuläre Lymphknotenmetastasen
N3b	Klinisch erkennbare Lymphknotenmetastasen entlang der A. mammaria int. und Befall mind. 1 axillären Lymphknotens, <i>oder</i> klinisch nicht erkennbare Lymphknotenmetastasen entlang der A. mammaria int. und Befall mind. 4 axillärer Lymphknoten
N3c	Metastasen in supraklavikulären Lymphknoten
N... (sn)	Metastasen in Sentinel-Lymphknoten
Nx(sn)	Sentinel-Lymphknoten nicht beurteilbar
N0(sn)	Sentinel-Lymphknoten metastasenfrei
N1a(sn)	Sentinel-Lymphknoten mit Mikrometastase (Durchmesser $\leq 2$ mm)
N1b(sn)	Sentinel-Lymphknoten mit Metastasen $> 2$ mm
<i>M</i>	<i>Organmetastasen</i>
Mx	Vorhandensein von Organmetastasen nicht beurteilbar
M0	Keine Organmetastasen nachweisbar
M1	Organmetastasen vorhanden
<i>R</i>	<i>Residualtumor</i>
Rx	Vorhandensein von Residualtumor kann nicht beurteilt werden
R0	kein Residualtumor
R1	histologisch Residualtumor
R2	makroskopisch Residualtumor (lokal oder Metastasen)
<i>G</i>	<i>Histologisches Grading (Differenzierungsgrad der malignen Zellen)</i>
Gx	Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt werden
G1	Gut differenziert
G2	Mässig differenziert
G3	Schlecht differenziert
G4	Undifferenziert

**Tabelle A.2:** Stadiengruppierungen [88]

<i>Stadium</i>	<i>T</i>	<i>N</i>	<i>M</i>
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II A	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Stadium II B	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium III A	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1–2	M0
Stadium III B	T4	jedes N	M0
Stadium III C	jedes T	N3	M0
Stadium IV	jedes T	jedes N	M1



## Anhang B

### Übersicht internationaler Studien

Die folgenden Tabellen geben eine Übersicht über Studienaufbau (Tabelle B.2) und Ergebnisse (Tabelle B.3) internationaler Studien zur Lymphknotenzytologie beim Mammakarzinom sortiert nach Erstautoren in alphabetischer Reihenfolge.

In der ersten Tabelle soll aufgezeigt werden, welches Patientenkollektiv und welche TNM-Stadien in die Studien eingeschlossen wurden, wie die axillären Lymphknoten entnommen wurden, welche Abklatschtechnik und welche Färbungen verwendet wurden. Zudem wird die Frage behandelt, ob eine Referenzmethode in Form einer histologischen Immunhistochemie eingesetzt wurde.

Die zweite Tabelle zeigt anhand der erwähnten statistischen Kennwerte auf, welche Ergebnisse durch die einzelnen Arbeitsgruppen erzielt wurden. Nähere Hintergründe zu den Studien finden sich in Abschnitt 2.6.5. Die Legende zu den einzelnen Spalten und verwendeten Abkürzungen enthält Tabelle B.1.

**Tabelle B.1:** Legende zu den folgenden Übersichts- und Ergebnistabellen von Studien zur SLN-Zytologie beim Mammakarzinom

Spalte	Bedeutung
+ / –	angewendet / nicht angewendet
—	keine Angaben
<i>Studie</i>	
Erstautor	Erstautor der Studie
Jahr	Publikationsjahr der Studie
Lit.	Verweis auf Studie im Literaturverzeichnis
<i>Studienaufbau</i>	
Anz. Pat.	Anzahl der untersuchten Patientinnen
Anz. LK	Anzahl der mittels SLN, SAD oder SPL entnommenen Lymphknoten
Ø Alter	Altersdurchschnitt der Patientinnen
pT	Tumorstadien der Primärtumoren (vgl. TNM-Klassifikation in Tab. A.1)
cN	klinischer Lymphknotenstatus (vgl. TNM-Klassifikation in Tab. A.1)
IHC	Immunhistochemie in der endgültigen Histologie angewendet
<i>Auswahlmethode der entnommenen Lymphknoten</i>	
SLN	Sentinel-Lymphknoten-Methode angewendet
SPL	<i>sampling</i> -Methode angewendet
<i>Aufbereitung der zytologischen Präparate</i>	
SSA	Serienschnittaufarbeitung der Lymphknoten für die Zytologie durchgeführt
AZ	Technik der Abklatschzytologie angewendet
SCR	<i>scraping</i> -Technik oder Abkratzytologie angewendet
<i>Anfärbung der zytologischen Präparate</i>	
DQ	Diff Quick-Färbung
G	Giemsa-Färbung
HE	Hämatoxilin-Eosin-Färbung
IHC	zytologische Immunhistochemie
MG	May-Giemsa-Färbung
MGG	May-Grünwald-Giemsa-Färbung
PAP	Papanicolaou-Färbung
TB	Toluidinblau-Färbung



**Tabelle B.2:** Aufbau internationaler Studien zur SLN-Zytologie beim Mammakarzinom

Studie	Anzahl			TNM-Stadien			Entnahme			Aufbereitung der zytologischen Präparate				
	Jahr	Lit.	Pat.	LK	Ø Alter	pT	cN	IHC	SLN	SPL	SSA	AZ	SCR	Färbung
Anastasiadis	2000	[3]	127	635	—	T1–3	N0–1	–	–	+	–	+	–	HE/G
Baitchev	2002	[4]	87	128	54	T1–2	N0	+	+	–	+	+	–	HE
Bochner	2003	[6]	53	—	58	—	N0	+	+	–	+	+	–	DQ
Creager	2002	[11]	646	1255	58	T1–3	—	+	+	–	+	+	–	DQ/HE
Cserni	2001	[13]	60	72	59	Tis–3	N0–1	+	+	–	–	+	–	HE
Fisher	1993	[25]	50	61	—	T1–2	—	+	–	+	–	+	–	HE
Henry-Tillman	2002	[36]	247	479	58	T1–3	N0	+	+	–	+	+	–	—
Kane	2001	[41]	150	—	57	T1–2	N0	+	+	–	+	+	–	HE
Karamlou	2003	[42]	142	446	—	T1–2	—	–	+	–	+	–	+	HE
Ku	1997	[50]	86	118	—	—	—	+	+	–	+	+	–	DQ/IHC
Ku	1999	[49]	—	305	—	—	—	+	+	–	+	+	–	DQ/IHC
Lambah	2003	[51]	47	212	—	T1–2	N0	—	+	–	+	+	–	TB/IHC
Lee	2002	[52]	64	155	—	T1–3	—	–	+	–	—	+	–	DQ/PAP

Fortsetzung auf Seite 98 ...

...Fortsetzung von Seite 97

Studie	Anzahl			TNM-Stadien				Entnahme			Aufbereitung der zytologischen Präparate			
	Jahr	Lit.	Pat.	LK	Ø Alter	pT	cN	IHC	SLN	SPL	SSA	AZ	SCR	Färbung
Erstautor														
Liang	2003	[54]	20	21	59	T1-2	—	+	+	—	+	+	—	—
Llatjos	2002	[55]	76	76	57	T1-2	N0	+	+	—	+	—	+	MGG/IHC
Motomura	2000	[62]	101	153	51	T1-2	N0-1	+	+	—	+	+	—	PAP
Mullenix	2003	[63]	71	162	56	T1-3	N0	+	+	—	+	+	—	DQ/HE
Noguchi	1999	[64]	38	95	54	Tis-2	N0-1b	+	+	—	—	+	—	MG/IHC
Ratanaw.	1999	[69]	55	138	56	—	—	—	+	—	+	+	—	HE
Rubio	1998	[71]	55	217	56	T1-3	N0-3	—	+	—	—	+	—	HE
Salem	2002	[72]	30	344	58	T1-3	N0-1	+	+	+	—	+	—	IHC
Shiver	2002	[75]	132	277	60	Tis-2	N0	+	+	—	—	+	—	DQ/HE
Smidt	2002	[77]	148	268	56	T0-3	N0	+	+	—	—	—	+	PAP/G
Turner	1998	[79]	278	—	—	—	—	+	+	—	—	+	—	—
Turner	1999	[80]	278	393	57	T1-3	—	+	+	—	+	+	—	DQ
Van Diest	1999	[83]	45	59	54	T1-2	N0	+	+	—	+	+	—	MGG/DQ
Yu	2002	[89]	77	—	46	T0-2	N0	+	+	—	+	+	—	DQ/IHC

**Tabelle B.3:** Ergebnisse internationaler Studien zur SLN-Zytologie beim Mammakarzinom

Studie	Jahr	Lit.	Färbung	Basis	Stat. Kennwerte in %				
					GG	Sens.	Spez.	PPW	NPW
Anastasiadis	2000	[3]	HE	K	91,0	96,0	83,0	92,0	—
			G	K	94,0	97,0	90,0	94,0	—
Baitchev	2002	[4]	HE	K	94,5	88,8	96,7	—	—
			HE	P	92,0	81,5	96,7	—	—
Bochner	2003	[6]	DQ	P	—	84,9	100,0	—	—
Creager	2002	[11]	DQ/HE	P	84,0	53,0	98,0	94,0	82,0
Cserni	2001	[13]	HE	K	77,0	56,0	100,0	100,0	69,0
			HE	P	78,0	59,0	100,0	100,0	68,0
Fisher	1993	[25]	HE	K	98,4	98,0	100,0	—	—
Henry-Tillman	2002	[36]	—	K	98,9	94,2	99,7	98,5	99,0
Kane	2001	[41]	HE	P	—	54,0	100,0	100,0	87,0
Karamlou	2003	[42]	HE	P	—	75,3	100,0	100,0	95,1
Ku	1997	[50]	DQ/IHC	—	—	—	—	—	—

Fortsetzung auf Seite 100...

Fortsetzung von Seite 99 ...

Studie				Stat. Kennwerte in %					
				Basis	GG	Sens.	Spez.	PPW	NPW
Ku	1999	[49]	DQ	K	—	78,0	99,7	—	—
			IHC	K	—	95,0	99,7	—	—
Lambah	2003	[51]	TB (Pathologe)	—	—	82,0	100,0	100,0	99,0
			IHC (Pathologe)	—	—	36,4	98,5	57,0	98,0
			TB (Nicht-Pathologe)	—	—	54,0	94,0	29,4	97,0
			IHC (Nicht-Pathologe)	—	—	54,5	99,0	75,0	98,5
Lee	2002	[52]	DQ/PAP	K	—	56,0	100,0	—	88,0
			DQ/PAP	P	—	65,0	100,0	—	91,0
Liang	2003	[54]	—	K	90,5	55,5	100,0	—	—
			—	P	85,7	62,5	100,0	—	—
Llatjos	2002	[55]	MGG/IHC	K	86,8	76,7	100,0	100,0	81,8
Motomura	2000	[62]	PAP	K	96,7	92,5	98,2	—	—
			PAP	P	96,0	90,9	98,5	—	—
Mullenix	2003	[63]	DQ/HE	K	90,9	47,0	100,0	100,0	—
			DQ/HE	P	83,0	84,0	100,0	100,0	—

Fortsetzung auf Seite 101 ...

Fortsetzung von Seite 100 ...

Studie	Erstautor	Jahr	Lit.	Färbung	Stat. Kennwerte in %					
					Basis	GG	Sens.	Spez.	PPW	NPW
Noguchi	1999	[64]	MG/IHC	P	P	82,0	64,0	100,0	—	—
Ratanaw.	1999	[69]	HE	HE	P	95,0	82,0	100,0	100,0	93,0
Rubio	1998	[71]	HE	HE	K	99,2	95,7	100,0	100,0	99,0
Salem	2002	[72]	HE	HE	K	—	93,3	100,0	100,0	99,3
					P	—	88,9	100,0	100,0	95,5
				IHC	K	—	96,7	100,0	100,0	99,7
				IHC	P	—	100,0	100,0	100,0	100,0
Shiver	2002	[75]	DQ/HE	DQ/HE	K	—	61,0	100,0	100,0	94,0
				DQ/HE	P	—	56,0	100,0	100,0	88,0
Smidt	2002	[77]	PAP/G	PAP/G	P	85,0	67,0	98,0	95,0	81,0
Turner	1998	[79]	Färbung o. Angabe/SS	Färbung o. Angabe/SS	P	93,0	98,0	—	—	—
Turner	1999	[80]	Färbung o. Angabe/SS	Färbung o. Angabe/SS	P	93,2	98,0	—	—	—
Van Diest	1999	[83]	MGG/DQ	MGG/DQ	K	83,0	62,0	100,0	100,0	77,0
Yu	2002	[89]	DQ/IHC	DQ/IHC	P	82,0	63,0	100,0	100,0	74,0
					P	98,7	97,4	100,0	100,0	98,2



## Anhang C

### Färbereien

#### C.1 Papanicolaou-Färbung

Die in einen Objektträgerhalter eingespannten Objektträger mit den Abklatschpräparaten werden der Reihe nach in unten genannte Gefässe eingetaucht. Die Färbereihe nach Papanicolaou setzt sich aus 31 Einzelschritten zusammen und dauert 10–15 Minuten. Insgesamt werden drei Farbstoffe kombiniert.

Voraussetzung für die Färbereihe ist die korrekte Fixierung der Präparate in einem Ether-Ethanol-Gemisch für mindestens 20 Minuten. Durch die Fixierung soll die Zellstruktur möglichst störungsfrei erhalten werden.

1. Eintauchen der Präparate in ein Gefäss mit 96 %-igem Ethanol
2. Eintauchen der Präparate in ein Gefäss mit 96 %-igem Ethanol
3. Eintauchen in 70 %-igen Ethanol
4. Abspülen in einem Gefäss mit Aqua dest.
5. Längeres Eintauchen in ein Gefäss mit Hämatoxylin (wässrige Lösung), welches die Zellkerne tiefblau färbt → 1–3 Minuten je nach Alter der Farbe
6. Spülen in Gefäss mit H<sub>2</sub>O
7. Spülen in Gefäss mit H<sub>2</sub>O
8. Spülen in Gefäss mit H<sub>2</sub>O
9. Erneutes Spülen mit Aqua dest.
10. Eintauchen in 70 %-igen Ethanol
11. Kurzes Eintauchen in ein Gemisch aus 200 ml 70 %-igem Ethanol und 25 ml Salzsäure → bis der Farbumschlag (rot) erzielt wird
12. Eintauchen in 70 %-igen Ethanol
13. Eintauchen in 70 %-igen Ethanol

14. Eintauchen in eine Lösung aus 200 ml 70 %-iger Ethanol und 25 ml 25 %-iger Ammoniak zur Neutralisierung → bis zum Farbumschlag (blau)
15. Spülen in 70 %-igen Ethanol
16. Eintauchen in 96 %-igen Ethanol
17. Eintauchen in 96 %-igen Ethanol
18. Zytoplasmafärbung mittels Lösung aus Orange G und 96 %-igem Ethanol → 2-3-maliges Durchziehen
19. Spülen in 96 %-igem Ethanol
20. Spülen in 96 %-igem Ethanol
21. Zweite Zytoplasmafärbung in polychromatischem Farbstoff EA 50 → 15 Sekunden bis 1 Minute
22. Eintauchen in Gefäß mit 99,6 %-igem Ethanol zum Entwässern
23. Eintauchen in Gefäß mit 99,6 %-igem Ethanol
24. Eintauchen in Gefäß mit 99,6 %-igem Ethanol
25. Eintauchen in Gefäß mit 99,6 %-igem Ethanol
26. Eintauchen in Gefäß mit 99,6 %-igem Ethanol
27. Eintauchen in ein Gemisch zu gleichen Teilen aus 99,6 %-igem Ethanol und Xylol
28. Eintauchen in Xylol, zwecks weiterer Dehydrierung und Zellbildklärung → bis zur Oberflächenglättung
29. Eintauchen in Xylol
30. Eintauchen in Xylol
31. Eintauchen in Xylol

Anschliessend verwendet man Corbit-Balsam (Eukitt) als Einschlussmedium und deckt die Präparate mit einem Deckgläschen ein.

## C.2 Diff Quick-Färbung

Die DQ-Färbereihe setzt sich aus 6 Einzelschritten zusammen, wobei die Färbung selbst 15–20 Sekunden dauert.

Insgesamt werden eine Fixierlösung und zwei Farbstoffe kombiniert. Die vom Hersteller bereitgestellten Lösungen/Reagenzien werden in drei Eintauchbehälter



gefüllt. Die in einen Objektträgerhalter eingespannten Objektträger mit den Abklatschpräparaten werden dann der Reihe nach in unten genannte Gefässe eingetaucht. Zwischendurch lässt man sie jeweils kurz abtropfen.

Voraussetzung für die Färbereihe und das anschliessende Eindecken ist die korrekte und vollständige Lufttrocknung der Präparate, die den variablen Zeitfaktor darstellt.

1. Eintauchen der Präparate in ein Gefäss mit der Fixierlösung (Fast Green in Methanol) für 5 x 1 Sekunde
2. Eintauchen der Präparate in ein Gefäss mit der Färbelösung I (Eosin G) für 5 x 1 Sekunde
3. Eintauchen der Präparate in ein Gefäss mit der Färbelösung II (Thiazin-Farbstoff) für 5 x 1 Sekunde
4. Abspülen mit Aqua dest. oder einer Pufferlösung mit pH 7,2
5. Lufttrocknung
6. Zelldifferenzierung mit Xylol und Eindeckung wie bei PAP

### **C.3 Hämatoxylin-Eosin-Färbung für den Schnellschnitt**

Nach Herstellung der Schnellschnittpräparate, wie in Abschnitt 4.3.2 beschrieben, werden diese mit der Hämatoxylin-Eosin-Färbung angefärbt.

1. Anfärben mit Hämalan n. Meier für 45 Sekunden
2. Spülen mit Aqua dest.
3. Spülen mit 70 %-igem Ethanol
4. Färben mit Eosin für 4 Sekunden
5. Spülen mit 70 %-igem Ethanol
6. Schwenken und Durchspülen in einer absteigenden Alkoholreihe
7. Schwenken in Xylol bis zur Oberflächenglättung
8. Anschliessend Eindeckung wie bei der Zytologie (s.o.)



## Literaturverzeichnis

- [1] U.-S. Albert, K.-D. Schulz: Short version of the guideline: Early detection of breast cancer in Germany. *J Cancer Res Clin Oncology*, 130, S. 527–36, 2004.
- [2] J. J. Albertini, G. H. Lyman, C. Cox, T. Yeatman, L. Balducci, N. Ku, S. Shivers, C. Berman, K. Wells, D. Rapaport, A. Shons, J. Horton, H. Greenberg, S. Nicosia, R. Clark, A. Cantor, D. S. Reintgen: Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *Jama*, 276(22), S. 1818–22, 1996.
- [3] P. G. Anastasiadis, N. G. Koutlaki, V. A. Liberis, P. G. Skaphida, P. N. Tsikouras, G. C. Galazios: Cytologic diagnosis of axillary lymph node metastasis in breast cancer. *Acta Cytol*, 44(1), S. 18–22, 2000.
- [4] G. Baitchev, G. Gortchev, A. Todorova: Intraoperative sentinel lymph node examination by imprint cytology during breast surgery. *Curr Med Res Opin*, 18(4), S. 185–7, 2002.
- [5] N. Beechey-Newman: Sentinel node biopsy – A revolution in the surgical management of breast cancer? *Cancer Treat Rev*, 24(3), S. 185–203, 1998.
- [6] M. A. Bochner, G. Farshid, T. J. Dodd, J. Kollias, P. G. Gill: Intraoperative imprint cytologic assessment of the sentinel node for early breast cancer. *World J Surg*, 27(4), S. 430–2, 2003.
- [7] P. J. Borgstein, R. Pijpers, E. F. Comans, P. J. van Diest, R. P. Boom, S. Meijer: Sentinel lymph node biopsy in breast cancer – Guidelines and pitfalls of lymphoscintigraphy and gamma probe detection. *J Am Coll Surg*, 186(3), S. 275–83, 1998.
- [8] R. M. Cabanas: An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer*, 39(2), S. 456–66, 1977.

- [9] S. E. Clare, S. F. Sener, W. Wilkens, R. Goldschmidt, D. Merkel, D. J. Winchester: Prognostic significance of occult lymph node metastases in node-negative breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 4(6), S. 447–51, 1997.
- [10] C. E. Cox, F. Haddad, S. Bass, J. M. Cox, N. N. Ku, C. Berman, A. R. Shons, T. Yeatman, S. Pendas, D. S. Reintgen: Lymphatic mapping in the treatment of breast cancer. *Oncology (Huntingt)*, 12(9), S. 1283–92, 1998.
- [11] A. J. Creager, K. R. Geisinger, S. A. Shiver, N. D. Perrier, P. Shen, J. Ann Shaw, P. R. Young, E. A. Levine: Intraoperative evaluation of sentinel lymph nodes for metastatic breast carcinoma by imprint cytology. *Mod Pathol*, 15(11), S. 1140–7, 2002.
- [12] G. Crile: Results of simple mastectomy without irradiation in the treatment of operative stage I cancer of the breast. *Ann Surg*, 168(3), S. 330–6, 1968.
- [13] G. Cserni: The potential value of intraoperative imprint cytology of axillary sentinel lymph nodes in breast cancer patients. *Am Surg*, 67(1), S. 86–91, 2001.
- [14] P. J. van Diest, H. L. Peterse, P. J. Borgstein, O. Hoekstra, C. J. Meijer: Pathological investigation of sentinel lymph nodes. *Eur J Nucl Med*, 26(4 Suppl.), S. S43–9, 1999.
- [15] P. J. van Diest, H. Torrenge, S. Meijer, C. J. Meijer: Pathologic analysis of sentinel lymph nodes. *Semin Surg Oncol*, 20(3), S. 238–45, 2001.
- [16] W. L. Donegan: Surgical clinical trials. *Cancer*, 53(3 Suppl.), S. 691–9, 1984.
- [17] K. Dowlathshahi, M. Fan, K. J. Bloom, D. J. Spitz, S. Patel, Jr. Snider, H. C.: Occult metastases in the sentinel lymph nodes of patients with early stage breast carcinoma: A preliminary study. *Cancer*, 86(6), S. 990–6, 1999.
- [18] W. Eiermann, I. Bauerfeind, R. G. H. Baumeister, J. C. de Waal, Th. Fügler, I. Funke, C. Gabka, C. Höß, A. Lebeau, B. Plattner, G. Raab, M. Untch: *Operative Therapie des primären Mammakarzinoms*. Manual Mammakarzinome, Tumorzentrum München, 2003.

- [19] J. Engel, D. Hölzel, J. Kerr, G. Schubert-Fritschle: *Epidemiologie. Manual Mammakarzinome*, Tumorzentrum München, 2003.
- [20] I. S. Fentiman, R. E. Mansel: The axilla: Not a no-go zone. *Lancet*, 337(8735), S. 221–3, 1991.
- [21] B. Fisher: The surgical dilemma in the primary therapy of invasive breast cancer – A critical appraisal. *Curr Probl Surg*, S. 1–53, 1970.
- [22] B. Fisher, M. Bauer, D. L. Wickerham, C. K. Redmond, E. R. Fisher, A. B. Cruz, R. Foster, B. Gardner, H. Lerner, R. Margoese: Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. A NSABP update. *Cancer*, 52(9), S. 1551–7, 1983.
- [23] B. Fisher, E. R. Fisher: Studies concerning the regional lymph node in cancer. II. Maintenance of immunity. *Cancer*, 29(6), S. 1496–501, 1972.
- [24] B. Fisher, C. Redmond, E. R. Fisher, M. Bauer, N. Wolmark, D. L. Wickerham, M. Deutsch, E. Montague, R. Margoese, R. Foster: Ten-year results of a randomized clinical trial comparing radical mastectomy and total mastectomy with or without radiation. *N Engl J Med*, 312(11), S. 674–81, 1985.
- [25] C. J. Fisher, S. Boyle, M. Burke, A. B. Price: Intraoperative assessment of nodal status in the selection of patients with breast cancer for axillary clearance. *Br J Surg*, 80(4), S. 457–8, 1993.
- [26] P. Gaglia, R. Bussone, B. Caldarola, M. Lai, A. Jayme, L. Caldarola: The correlation between the spread of metastases by level in the axillary nodes and disease-free survival in breast cancer. A multifactorial analysis. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 23(6), S. 849–54, 1987.
- [27] M. H. Galea, E. Athanassiou, J. Bell, B. Dilks, J. F. Robertson, C. W. Elston, R. W. Blamey, I. O. Ellis: Occult regional lymph node metastases from breast carcinoma – Immunohistological detection with antibodies CAM 5.2 and NCRC-11. *J Pathol*, 165(3), S. 221–7, 1991.

- [28] W. C. Gewant, L. Chasin, M. D. Tilson, C. Rutledge, I. S. Goldenberg: Lymph node-breast carcinoma interrelations in tissue culture. *Surg Gynecol Obstet*, 133(6), S. 959–62, 1971.
- [29] K. Giersiepen, C. Heitmann, K. Jahnsen, C. Lange: *Brustkrebs*. Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Band 25, Robert Koch Institut, Berlin, 2005.
- [30] A. E. Giuliano: Sentinel lymphadenectomy in primary breast carcinoma – An alternative to routine axillary dissection. *J Surg Oncol*, 62(2), S. 75–7, 1996.
- [31] A. E. Giuliano: Intradermal blue dye to identify sentinel lymph node in breast cancer. *Lancet*, 350(9082), S. 958, 1997.
- [32] A. E. Giuliano, P. S. Dale, R. R. Turner, D. L. Morton, S. W. Evans, D. L. Krasne: Improved axillary staging of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. *Ann Surg*, 222(3), S. 394–401, 1995.
- [33] E.-M. Grischke, G. Bastert, H. F. Otto, H.-P. Sinn, M. Treiber, D. von Fournier, M. Wannenmacher: *Das Mammakarzinom – Empfehlungen für eine standardisierte Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. Tumorzentrum Heidelberg/Mannheim, 5. Aufl., 2000.
- [34] D. J. Hadjiminas, M. Burke: Intraoperative assessment of nodal status in the selection of patients with breast cancer for axillary clearance. *Br J Surg*, 81(11), S. 1615–6, 1994.
- [35] P. J. Hainsworth, J. J. Tjandra, R. G. Stillwell, D. Machet, M. A. Henderson, G. C. Rennie, I. F. McKenzie, R. C. Bennett: Detection and significance of occult metastases in node-negative breast cancer. *Br J Surg*, 80(4), S. 459–63, 1993.
- [36] R. S. Henry-Tillman, S. Korourian, I. T. Rubio, A. T. Johnson, A. T. Mancino, N. Massol, L. F. Smith, K. C. Westbrook, V. S. Klimberg: Intraoperative touch preparation for sentinel lymph node biopsy – A 4-year experience. *Ann Surg Oncol*, 9(4), S. 333–9, 2002.
- [37] E. C. Hsueh, A. E. Giuliano: Sentinel Lymph Node Technique for Staging of Breast Cancer. *Oncologist*, 3(3), S. 165–170, 1998.

- [38] D. Ivens, A. L. Hoe, T. J. Podd, C. R. Hamilton, I. Taylor, G. T. Royle: Assessment of morbidity from complete axillary dissection. *Br J Cancer*, 66(1), S. 136–8, 1992.
- [39] K. Jagla, W. Heidenreich, J. Schussler, P. Borner, F. Dehnhard, H. Deicher, J. Kalden, H. H. Peter: Imprint cytology of axillary lymph nodes in breast neoplasms for intraoperative rapid diagnosis. *Fortschr Med*, 96(26-27), S. 1366–8, 1978.
- [40] I. Jannink, M. Fan, S. Nagy, G. Rayudu, K. Dowlatshahi: Serial sectioning of sentinel nodes in patients with breast cancer – A pilot study. *Ann Surg Oncol*, 5(4), S. 310–4, 1998.
- [41] J. M. Kane, S. B. Edge, J. S. Winston, N. Watroba, T. C. Hurd: Intraoperative pathologic evaluation of a breast cancer sentinel lymph node biopsy as a determinant for synchronous axillary lymph node dissection. *Ann Surg Oncol*, 8(4), S. 361–7, 2001.
- [42] T. Karamlou, N. M. Johnson, B. Chan, D. Franzini, D. Mahin: Accuracy of intraoperative touch imprint cytologic analysis of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Am J Surg*, 185(5), S. 425–8, 2003.
- [43] M. Kaufmann, G. von Minckwitz, W. Eiermann, J. Hilfrich, W. Jonat, R. Kreienberg: Therapie primärer Mammakarzinome – Ergebnisse der Konferenz in St. Gallen 2003. *DÄ*, 101(4), S. A 190–4, 2004.
- [44] T. Kühn, A. Bembenek, H. Büchels, T. Decker, J. Dunst, U. Müllerleile, D. L. Munz, H. Ostertag, M. L. Sautter-Bihl, H. Schirrmeister, A. H. Tulusan, M. Untch, K. J. Winzer, C. Wittekind: Sentinel-Node-Biopsie beim Mammakarzinom – Interdisziplinär abgestimmter Konsensus der Deutschen Gesellschaft für Senologie für eine qualitätsgesicherte Anwendung in der klinischen Routine. *Geburtsh Frauenheilk*, 63, S. 835–40, 2003.
- [45] M. W. Kissin, G. Querci della Rovere, D. Easton, G. Westbury: Risk of lymphoedema following the treatment of breast cancer. *Br J Surg*, 73(7), S. 580–4, 1986.

- [46] D. Krag, D. Weaver, T. Ashikaga, F. Moffat, V. S. Klimberg, C. Shriver, S. Feldman, R. Kusminsky, M. Gadd, J. Kuhn, S. Harlow, P. Beitsch: The sentinel node in breast cancer—a multicenter validation study. *N Engl J Med*, 339(14), S. 941–6, 1998.
- [47] D. N. Krag, D. L. Weaver, J. C. Alex, J. T. Fairbank: Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol*, 2(6), S. 335–340, 1993.
- [48] R. Kreienberg, I. Kopp, W. Lorenz, W. Budach, J. Dunst, A. Lebeau, H.-J. Lück, G. von Minckwitz, K. Possinger, W. Sauerbrei, S. Sauerland, R. Souchon, C. Thomssen, M. Untch, T. Volm, J. Weis, B. Schmitt-Reißen, M. Koller, V. Heilmann: *Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms der Frau. Nationale S3-Leitlinie*. Deutsche Krebsgesellschaft e.V., Frankfurt am Main, 2004.
- [49] N. N. Ku: Pathologic examination of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Surg Oncol Clin N Am*, 8(3), S. 469–79, 1999.
- [50] N. N. Ku, N. Mela, C. E. Cox, D. S. Reintgen, S. V. Nicosia: Diagnostic Pitfalls in Aspiration Biopsy Cytology of Papillary Breast Lesions. *Cancer Control*, 4(5), S. 451–457, 1997.
- [51] P. A. Lambah, M. A. McIntyre, U. Chetty, J. M. Dixon: Imprint cytology of axillary lymph nodes as an intraoperative diagnostic tool. *Eur J Surg Oncol*, 29(3), S. 224–8, 2003.
- [52] A. Lee, S. Krishnamurthy, A. Sahin, W. F. Symmans, K. Hunt, N. Sneige: Intraoperative touch imprint of sentinel lymph nodes in breast carcinoma patients. *Cancer*, 96(4), S. 225–31, 2002.
- [53] Y. T. Lee, L. S. Chan: Surgical treatment of carcinoma of the breast: II. Prognostic factors influencing relapse rate. *J Surg Oncol*, 25(2), S. 102–8, 1984.
- [54] R. Liang, J. Craik, E. S. Juhasz, C. R. Harman: Imprint cytology versus frozen section – Intraoperative analysis of sentinel lymph nodes in breast cancer. *ANZ J Surg*, 73(8), S. 597–9, 2003.



- [55] M. Llatjos, E. Castella, M. Fraile, M. Rull, F. J. Julian, F. Fuste, C. Rovira, J. Fernandez-Llamazares: Intraoperative assessment of sentinel lymph nodes in patients with breast carcinoma: accuracy of rapid imprint cytology compared with definitive histologic workup. *Cancer*, 96(3), S. 150–6, 2002.
- [56] International Breast Cancer Study Group (Ludwig): Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancers. *Lancet*, 335(8705), S. 1565–8, 1990.
- [57] I. de Mascarel, F. Bonichon, J. M. Coindre, M. Trojani: Prognostic significance of breast cancer axillary lymph node micrometastases assessed by two special techniques – Reevaluation with longer follow-up. *Br J Cancer*, 66(3), S. 523–7, 1992.
- [58] D. M. Miltenburg, C. Miller, T. B. Karamlou, F. C. Brunicardi: Meta-analysis of sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *J Surg Res*, 84(2), S. 138–42, 1999.
- [59] G. von Minckwitz, M. Kaufmann: Aktualisierte Empfehlungen zur Therapie primärer Mammakarzinome. *GynSpectrum*, 2(3), S. 3–7, 2002.
- [60] M. Morrow: Role of axillary dissection in breast cancer management. *Ann Surg Oncol*, 3(3), S. 233–4, 1996.
- [61] D. L. Morton, D. R. Wen, J. H. Wong, J. S. Economou, L. A. Cagle, F. K. Storm, L. J. Foshag, A. J. Cochran: Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*, 127(4), S. 392–9, 1992.
- [62] K. Motomura, H. Inaji, Y. Komoike, T. Kasugai, S. Nagumo, S. Noguchi, H. Koyama: Intraoperative sentinel lymph node examination by imprint cytology and frozen sectioning during breast surgery. *Br J Surg*, 87(5), S. 597–601, 2000.
- [63] P. S. Mullenix, P. L. Carter, M. J. Martin, S. R. Steele, C. L. Scott, M. J. Walts, A. L. Beitler: Predictive value of intraoperative touch preparation analysis of sentinel lymph nodes for axillary metastasis in breast cancer. *Am J Surg*, 185(5), S. 420–4, 2003.

- [64] M. Noguchi, E. Bando, K. Tsugawa, K. Miwa, K. Yokoyama, K. Nakajima, T. Michigishi, N. Tonami, H. Minato, A. Nonomura: Staging efficacy of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. *Breast Cancer Res Treat*, 57(2), S. 221–9, 1999.
- [65] M. Noguchi, N. Katev, I. Miyazaki: Diagnosis of axillary lymph node metastases in patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 40(3), S. 283–93, 1996.
- [66] D. W. Ollila, M. B. Brennan, A. E. Giuliano: Therapeutic effect of sentinel lymphadenectomy in T1 breast cancer. *Arch Surg*, 133(6), S. 647–51, 1998.
- [67] R. Pijpers, S. Meijer, O. S. Hoekstra, G. J. Collet, E. F. Comans, R. P. Boom, P. J. van Diest, G. J. Teule: Impact of lymphoscintigraphy on sentinel node identification with technetium-99m-colloidal albumin in breast cancer. *J Nucl Med*, 38(3), S. 366–8, 1997.
- [68] D. S. Quill, A. L. Leahy, R. G. Lawler, R. D. Finney: Lymph node imprint cytology for the rapid assessment of axillary node metastases in breast cancer. *Br J Surg*, 71(6), S. 454–5, 1984.
- [69] A. Ratanawichitrasin, C. V. Biscotti, L. Levy, J. P. Crowe: Touch imprint cytological analysis of sentinel lymph nodes for detecting axillary metastases in patients with breast cancer. *Br J Surg*, 86(10), S. 1346–8, 1999.
- [70] A. Recht, M. J. Houlihan: Axillary lymph nodes and breast cancer – A review. *Cancer*, 76(9), S. 1491–512, 1995.
- [71] I. T. Rubio, S. Korourian, C. Cowan, D. N. Krag, M. Colvert, V. S. Klimberg: Use of touch preps for intraoperative diagnosis of sentinel lymph node metastases in breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 5(8), S. 689–94, 1998.
- [72] A. A. Salem, A. G. Douglas-Jones, H. M. Sweetland, R. G. Newcombe, R. E. Mansel: Evaluation of axillary lymph nodes using touch imprint cytology and immunohistochemistry. *Br J Surg*, 89(11), S. 1386–9, 2002.

- [73] D. D. Sedmak, T. A. Meineke, D. S. Knechtges, J. Anderson: Prognostic significance of cytokeratin-positive breast cancer metastases. *Mod Pathol*, 2(5), S. 516–20, 1989.
- [74] G. M. Senofsky, Jr. Moffat, F. L., K. Davis, M. M. Masri, K. C. Clark, D. S. Robinson, B. Sabates, A. S. Ketcham: Total axillary lymphadenectomy in the management of breast cancer. *Arch Surg*, 126(11), S. 1336–42, 1991.
- [75] S. Shiver, A. J. Creager, K. Geisinger, N. D. Perrier, P. Shen, E. A. Levine: Intraoperative analysis of sentinel lymph nodes by imprint cytology for cancer of the breast. *Am J Surg*, 184(5), S. 424–7, 2002.
- [76] S. G. Silverberg: Intraoperative assessment of sentinel nodes in breast cancer. *Histopathology*, 36(2), S. 185–6, 2000.
- [77] M. L. Smidt, R. Besseling, C. A. Wauters, L. J. Strobbe: Intraoperative scrape cytology of the sentinel lymph node in patients with breast cancer. *Br J Surg*, 89(10), S. 1290–3, 2002.
- [78] M. Trojani, I. de Mascarel, J. M. Coindre, F. Bonichon: Micrometastases to axillary lymph nodes from invasive lobular carcinoma of breast: detection by immunohistochemistry and prognostic significance. *Br J Cancer*, 56(6), S. 838–9, 1987.
- [79] R. R. Turner, A. E. Giuliano: Intraoperative pathologic examination of the sentinel lymph node. *Ann Surg Oncol*, 5(8), S. 670–2, 1998.
- [80] R. R. Turner, N. M. Hansen, S. L. Stern, A. E. Giuliano: Intraoperative examination of the sentinel lymph node for breast carcinoma staging. *Am J Clin Pathol*, 112(5), S. 627–34, 1999.
- [81] R. F. Uren, R. B. Howman-Giles, J. F. Thompson, D. Malouf, G. Ramsey-Stewart, F. W. Niesche, S. B. Renwick: Mammary lymphoscintigraphy in breast cancer. *J Nucl Med*, 36(10), S. 1775–80, 1995.
- [82] P. Valagussa, G. Bonadonna, U. Veronesi: Patterns of relapse and survival following radical mastectomy – Analysis of 716 consecutive patients. *Cancer*, 41(3), S. 1170–8, 1978.

- [83] P. J. Van Diest, H. Torrença, P. J. Borgstein, R. Pijpers, R. P. Bleichrodt, F. D. Rahusen, S. Meijer: Reliability of intraoperative frozen section and imprint cytological investigation of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Histopathology*, 35(1), S. 14–8, 1999.
- [84] U. Veronesi, G. Paganelli, V. Galimberti, G. Viale, S. Zurrada, M. Bedoni, A. Costa, C. de Cicco, J. G. Geraghty, A. Luini, V. Sacchini, P. Veronesi: Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet*, 349(9069), S. 1864–7, 1997.
- [85] U. Veronesi, G. Paganelli, G. Viale, V. Galimberti, A. Luini, S. Zurrada, C. Robertson, V. Sacchini, P. Veronesi, E. Orvieto, C. De Cicco, M. Intra, G. Tosi, D. Scarpa: Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer – Results in a large series. *J Natl Cancer Inst*, 91(4), S. 368–73, 1999.
- [86] U. Veronesi, F. Rilke, A. Luini, V. Sacchini, V. Galimberti, T. Campa, E. Dei Bei, M. Greco, A. Magni, M. Merson: Distribution of axillary node metastases by level of invasion – An analysis of 539 cases. *Cancer*, 59(4), S. 682–7, 1987.
- [87] U. Veronesi, R. Saccozzi, M. Del Vecchio, A. Banfi, C. Clemente, M. De Lena, G. Gallus, M. Greco, A. Luini, E. Marubini, G. Muscolino, F. Rilke, B. Salvadori, A. Zecchini, R. Zucali: Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *N Engl J Med*, 305(1), S. 6–11, 1981.
- [88] C. Wittekind, H.J. Meyer, F. Bootz: *TNM – Klassifikation maligner Tumoren*. UICC, Springer, Heidelberg, 6. Aufl., 2002.
- [89] J. C. Yu, G. C. Hsu, Y. C. Liu, L. F. Sheu, S. H. Li, T. Y. Chao: Sentinel node biopsy in early breast cancer in Taiwan. *World J Surg*, 26(11), S. 1365–9, 2002.

## Im Rahmen der Dissertation entstandene Publikationen

- [A] S. Klemt, M. Kalder, U. S. Albert, W. Alt, A. Milkereit, A. Günyar, U. Wagner: Intraoperative Sentinel-Lymphknoten Diagnostik mittels Abklatschzytologie versus Schnellschnitt. *176. Tagung der Mittelrheinischen Gesellschaft für Geburtshilfe und Gynäkologie (MGGG)*, Fulda, 2004.

Auszeichnung des Posters mit dem Posterpreis der MGGG

- [B] M. Kalder, S. Klemt, A. Milkereit, W. Alt, R. Moll, U. Wagner, U. S. Albert: Imprint cytology of intraoperative sentinel lymph nodes: diagnostics depending on the analyst and the staining method compared to results of immediate sectioning. *27<sup>th</sup> Annual San Antonio Breast Cancer Symposium*, San Antonio (TX), USA, 2004.



# Lebenslauf

## Zur Person

---

<i>Name</i>	Sabine Hofmann, geb. Klemt
<i>Geburtsdatum, -ort</i>	27. Februar 1979 in Gelsenkirchen
<i>Eltern</i>	Dr. med. Christine Klemt-Meinhold, geb. Meinhold Dr. jur. Hermann Klemt
<i>Familienstand</i>	verheiratet mit Dipl.-Ing. Pascal Hofmann

## Schulausbildung

---

07.1985 – 06.1991	Grundschule Beckeradsdelle in Gelsenkirchen
07.1991 – 06.1998	Leibniz-Gymnasium in Gelsenkirchen
03.06.1998	Abschluß mit Abitur

## Studium

---

10.1998 – 04.2005	Studium der Medizin an der Philipps-Universität Marburg
28.04.2005	Abschluß mit Staatsexamen

## Berufstätigkeit

---

seit 06.2005	Assistenzärztin in Weiterbildung Abteilung für Chirurgie, Donauklinik, Neu-Ulm
--------------	---





## **Verzeichnis der akademischen Lehrer**

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren folgende Damen und Herren Professores bzw. Privatdozenten:

Arnold, Aumüller, Bach, Basler, Baum, Barth, Behr, Bertalanffy, Berthold, Bien, Cetin, Christiansen, Czubayko, Daut, Donner-Banzhoff, Engenhardt-Cabillic, Folz, Fruhstorfer, Gemsa, Geus, Görg, Gotzen, Griss, Grundner, Grzeschik, Gudermann, Happle, Hasilik, Hellinger, Hertl, Hofmann, Hoyer, Joseph, Kern, Klenk, Klose, Koolmann, Kretschmer, Krieg, Kroll, Lenz, Lorenz, Lill, Löffler, Lohoff, Maisch, Mennel, Moll, Moosdorf, Mueller, Mutters, Neubauer, Oertel, Radsak, Remschmidt, Renz, Richter, Röhm, Rosenow, Rothmund, Schäfer, Schmidt, Schnabel, Schüffel, Schulz, Seitz, Slenczka, Steiniger, Sturm, Thomas, Vogelmeier, Voigt, v. Wichert, Wagner, Walthers, Weihe, Werner, Westermann, Wulf.

Meine akademischen Lehrer während des Praktischen Jahres waren folgende Herren Professoren:

Metzger (Kantonsspital Triemli, Zürich, Schweiz), Klose, Wagner (Universitätsklinikum, Marburg), Konermann (Marienkrankenhaus, Kassel)



## Danksagung

Herrn Prof. em. Dr. K.-D. Schulz gilt mein herzlicher Dank für die Überlassung des Themas und seinem Nachfolger Herrn Prof. Dr. U. Wagner für die Übernahme der Arbeit. Meinen Betreuern Herrn Dr. M. Kalder und Frau Dr. U.-S. Albert danke ich sehr, dass sie diese Arbeit möglich gemacht, betreut und unterstützt haben.

Besonders danken möchte ich auch dem MTA-Team der Frauenklinik Marburg, Frau Wachenfeld und Frau Müller, sowie Frau Dr. W. Alt für das Erstellen und Befunden der Präparate.

Meinem Mitstreiter Herrn O. Schulte möchte ich besonders für die nette Starthilfe danken. Dank auch Herrn Prof. Dr. R. Moll, dem Leiter des Marburger Instituts für Pathologie für die gute interdisziplinäre Zusammenarbeit.

Herrn Prof. Dr. P. Barth aus der Abteilung für Pathologie sei ebenfalls herzlichst gedankt, der beim Anfertigen einiger der Abbildungen behilflich war (das ist wirklich eine wunderschöne Mitose).

Herrn Dipl.-Ing. M. Zedler möchte ich sehr für seine hilfreiche Unterstützung bei kniffligen Fragen zum hier verwendeten Satzsystem  $\text{\LaTeX}$  und Ratschläge bei statistischen Themen danken.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen geliebten Eltern, die mich immer unterstützen und an mich glauben.

Und nicht zuletzt danke ich meinem wunderbaren Ehemann Pascal für all die Rückendeckung und Hilfe in den letzten Jahren und seine grenzenlose Geduld.